

München, 1959

Über die Verwertung parenteral
zugeführter Fettemulsion
und ihre Beeinflussung durch Heparin

von

GERT KOCH

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT
IN MÜNCHEN

Direktor Professor Dr. W. Seitz

ÜBER DIE VERWERTUNG PARENTERAL ZUGEFÜHRTER
FETTEMULSION UND IHRE BEEINFLUSSUNG
DURCH HEPARIN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
G e r t K o c h
aus Berlin

München 1959

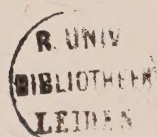
Referent: PROF. DR.W.SEITZ

Dekan: PROF. DR.H.SCHWIEGK

Tag der mündlichen Prüfung 15.12.1959

gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Meinen lieben Eltern



I N H A L T

	SEITE
Einleitung	5
Thema und Problemstellung	12
Methodik	15
Ergebnisse	27
Die Ergebnisse des markierten Fett- gehaltes in der Leber	27
Die Ergebnisse des markierten Fett- gehaltes in der Lunge	40
Der Gehalt an markiertem Fett in der Milz	48
Der Gehalt an radioaktiv markiertem C ¹⁴ O ₂ in der Ausatemungsluft	50
Übersichtstabellen	55
Besprechung der Ergebnisse	57
Zusammenfassung	62
Literaturverzeichnis	65



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555221_0100

E I N L E I T U N G

Im Jahre 1943 machte der amerikanische Chirurg Hahn (1) Versuche an Hunden, um über die Circulation der Erythrocyten, die er radioaktiv markiert hatte, Einzelheiten zu erfahren. Dabei spritzte er intravenös Heparin, um einer Blutgerinnung entgegenzuwirken. Es fiel ihm auf, daß das Plasma einiger Tiere, die eine fettreiche Nahrung erhalten hatten, milchig trüb war. Nach der Heparininjektion wurde das getrübte Plasma jedoch plötzlich völlig klar. Er glaubte zunächst an eine rein zufällige Reaktion, untersuchte dann aber systematisch den Grad der Lipämie und spritzte anschließend Heparin. Jedesmal trat innerhalb weniger Minuten eine auffällige Klärung des Plasmas ein. Diese Erscheinung nennt man Lipämieklärung. Hahn beobachtete weiterhin, daß die Zugabe von Heparin in vitro zu einem lipämischen Plasma zu keiner Klärungsreaktion führt.

Erst 1950 bestätigte Anderson (2) die Hahn'schen Ergebnisse. Er stellte folgendes fest:

1. Lipämisches Plasma im strömenden Blut wird durch intravenöse Heparininjektionen innerhalb von 30 Sekunden bis zu 5 Minuten völlig klar.
2. Lipämisches Plasma in vitro erfährt durch Heparinzugabe keine Klärung.
3. Mischt man dagegen lipämisches Plasma mit dem Plasma eines Tieres, das vor der Entnahme Heparin injiziert bekam, so tritt die Lipämieklärung auch in vitro ein.

Anderson vermutete, daß diese Klärwirkung einem durch Zuführung des Heparins gebildeten oberflächenaktiven, antilipämisch wirksamen Faktor zuzuschreiben ist. Die Bildung eines Heparin-Phosphorlipoid-Komplexes wurde von ihm angenommen.

Diese Bildung des Klärfaktors wurde inzwischen von vielen Autoren untersucht (Anfinsen, Zöllner) (3 u. 4). Sie stellten fest, daß es nur unter der Beteiligung von Gewebe zur Klärfaktorbildung kommt. Unter Verwendung von Gewebehomogenaten konnten sie auch *in vitro* die Klärfaktorbildung erreichen und näher untersuchen. Die Reaktion läuft äusserst rasch ab, wahrscheinlich wird aus dem klärfaktorbildenden Gewebe eine Substanz in den Klärfaktor abgegeben (5).

Normalerweise sind die Lipide im Plasma an Eiweiße in Form der Lipoproteine gebunden. Wie diese Bildung erfolgt, ist jedoch nicht ganz klar. Die Lipoproteine befinden sich im Plasma in Lösung, d.h., daß das Plasma eine Lösungseigenschaft für Fette besitzt. Nach Zöllner (5) ist für die Lösung der Lipide eine Aggregatbildung bestimmter Art mit den Proteinen verantwortlich. Ist nach Fettgenuß die Fettaufnahme in das Plasma größer als die Fettabgabe aus dem Plasma in das Gewebe zu Abbau und Umbau, so kommt es zur Plasmatrübung, die bedingt ist durch das nicht mehr ausreichende Lösungsvermögen des Blutplasmas. Mikroskopisch gesehen besteht die Trübung (Lipämie) aus einer Vielzahl kleinster Fetttröpfchen mit einem Durchmesser von ca 1μ . Man bezeichnet sie als Chylomikronen.

Man nimmt an (6), daß sie von einem dünnen Proteinfilm überzogen sind, der an die Lipoide durch die erwähnte Aggregatbindung gebunden wird. Der Grad der lipämischen Trübung kann photometrisch gemessen werden, außerdem an Hand von Viscositätsänderungen. Anderson (3) zeigte schon, daß es bei der Lipämie zu einer Änderung der Oberflächenspannung kommt, und zwar im Sinne einer Viscositätszunahme.

Die physiologischerweise Stunden dauernde Lipämieklärung wird durch die Zugabe des Heparins stark verkürzt, sie tritt innerhalb weniger Minuten ein. Dabei ändert sich zunächst der Gehalt an Lipoiden im Plasma nicht, es kommt lediglich zu einer Verminderung der Oberflächenspannung (Viscositätsabnahme). Die Klärung des Plasmas ist der Ausdruck für einen Zustand feinsten Dispersion der Fetttröpfchen, d.h., die vorhandene Lipoidmenge wird sehr schnell sehr fein verteilt. Es handelt sich also um einen physikalischen Vorgang. Unter dem Einfluß des Heparins kommt es zu einer vermehrt auftretenden Klärfaktorausschüttung aus dem Gewebe. Nach Seitz und Zöllner (4) ist der Grad der Freisetzung des Klärfaktors abhängig von der Menge des gespritzten Heparins. Daraus folgt wiederum, daß die Abnahme der Trübung proportional der Konzentration des ausgeschütteten Klärfaktors im Plasma ist. Schon sehr geringe Dosen Heparin genügen, um ein maximales Freisetzen des Klärfaktors zu erreichen. 1 mg Heparin/kg Körpergewicht und weniger genügen, um eine Lipämie in kurzer Zeit zu beseitigen.

Heparin ist ein Gemisch aus verschiedenen sulfurierten Mucopolysacchariden und ist deshalb keine einheitliche Verbindung (7). Sein Molgewicht beträgt 12 000. Man findet das Heparin in den basophilen Granulocyten, in den Gewebe- und Mastzellen und im Leberparenchym. des Organismus. Selbst wenn die gerinnungshemmende Eigenschaft durch partiellen Abbau des Heparins (4) stark herabgesetzt wird, so ist dadurch die Klärungsreaktion nicht gestört. Die lipämieklärende Wirkung des Heparins besitzen auch noch andere hochmolekulare Kohlehydrate, sogenannte Heparinoide, wie z.B. das Glykogen, das Gummi-arabicum und das Thrombocid. Die Wirksamkeit z.B. des Thrombocids als Klärungsmittel entspricht ungefähr seiner anticoagulatorischen Wirkung, die niedriger ist als die des Heparins. 1 ccm Thrombocid (50 mg) entsprechen 0,5 ccm Liquemin (Heparin La Roche = 2 500 I.E. Heparin). Bei Anwendung der Heparinoide müssen also entsprechend höhere Dosen verabreicht werden.

Daß der Klärungsprozeß auch in Abwesenheit von exogenem (d.h. von gespritzten) Heparin abläuft, allerdings viel langsamer, haben die Versuche von Anfinsen (8) ergeben. Es scheint, daß es auch hier - bei einem Mehrangebot von Fett, das zur Lipämie führt - zu einer freilich geringeren Heparinausschüttung (endogen) und damit zu einer mehr oder weniger großen Klärfaktorausschüttung kommt. Die Menge der endogenen Heparinausschüttung wird sich nach dem Grad der bestehenden Lipämie richten und ist individuell verschieden. In vitro führt der Zusatz von steigenden Mengen Heparin zu einer steigenden Klärungsaktivität bis zu einem Maximum der Heparinkonzentration zwischen 20 und 250 μ /ccm.

Höhere Mengen haben eine hemmende Wirkung. Eine ebenfalls hemmende Eigenschaft auf die Klärfaktorausschüttung zeigt die zunehmende Erwärmung des Plasmas. Bei 61° Cels. ist die Klärwirkung völlig aufgehoben und irreversibel inaktiviert. Ebenso nimmt die Klärwirkung bei steigender Verdünnung ab, eine 32-fache Verdünnung setzt die Wirkung des Faktors bereits um mehr als 4/5 herab (9). Das Optimum der klärenden Wirkung liegt bei 40° Cels. und einem pH-Wert von 7,4.

Der Klärfaktor findet sich in Blutplasma, in den Gefäßwänden, im Fett- vor allem aber im Herzgewebe von Kaninchen, Ratten und Rindern. Verschiedene Autoren haben nachgewiesen, daß z.B. ein Herzhomogenat im Gegensatz zu anderen Gewebshomogenaten bei Heparinzugabe eine besonders große Menge an Klärfaktor freisetzt. Die Menge des Klärfaktors in diesem Homogenat ist so groß, daß auch ohne Heparinverabreichung eine lipämische Serumtrübung verschwindet, allerdings in erheblich längerer Zeit. Die Reaktion des Klärungsfaktors mit dem lipämischen Plasma ist abhängig von der Anwesenheit eines Co-Proteins in diesem Plasma. Die Hemmung der Klärung durch Heparin ist nach Zöllner als Wettbewerb zwischen Heparin und heparinhaltigen Klärungsfaktor um die Bindung an dem Co-Protein aufzufassen (14). Ein geklärtes Plasma wird durch den Zusatz von Protamin wieder in den Zustand der Trübung gebracht (10, 13). Der Klärungsvorgang ist damit also reversibel. Zöllner (14) gibt für die Klärungsreaktion folgendes Schema an:

Lipämieklärfaktor + Co-Protein + Chylomikronen



Lipoproteine des geklärten Plasmas.

Nach der Klärung des Plasmas kommt es durch das Einwirken einer Lipoproteinlipase auf die Lipoproteine zur Bildung freier Fettsäuren:

Lipoprotein
Lipase

Lipoproteine des geklärten Plasmas $\longrightarrow$ Freie Fettsäuren.

Korn und einige Autoren (10) nehmen an, daß der durch Heparin freigesetzte Klärfaktor ein Enzym, eine Lipoproteinlipase ist, die die Neutralfette nur in Verbindung mit Protein in Fettsäuren und Glycerin spaltet und dann direkt abbaut. Sie bezeichnen die Lipoproteinlipase als ein heparinaktives Enzym und setzen es dem Klärfaktor gleich. Diese Auffassung widerspricht jedoch (13) der Reversibilität der Klärungsreaktion durch Protamin. Die Zerstörung eines Katalysators beendet eine katalysierte Reaktion, kehrt sie aber nicht um (14).

Mit dem Verschwinden der Chylomikronen (Klärung des lipämischen Plasmas) geht gleichzeitig eine Hydrolyse einher. Die Chylomikronen wandern durch die Kapillarwände in die extrazellulären Gewebsräume und von dort durch Diffusion in die Gewebszelle. Sie können jedoch auch ohne diesen Umweg in direkter Diffusion durch die Kapillarwände in die Zelle gelangen (6). Das Verschwinden der Fette ist also ein Ausdruck einmal für den Abbau und die Verbrennung und zum anderen für den Umbau und die Ablagerung der Fette in die Depots.

Die Amerikaner Grossman und Mitarbeiter (15) beschäftigten sich mit der parenteralen Fettzufuhr bei Ratten. Nach intravenöser Injektion einer radioaktiven Fettemulsion aus Sojabohnenöl analysierte er den Gehalt an markierten Fetten in einzelnen Organen und konnte an Hand der festgestellten Aktivität Aussagen über Aufnahme und Abbau des injizierten Fettes machen. Um den Einfluß von Heparin auf den Abbau und Umbau des Fettes zu untersuchen, verwendete er für seine Versuche Rattenpaare. Das eine Tier erhielt vor der Fettemulsion Heparin, das andere Tier diente zur Kontrolle. Gleichzeitig bestimmte er den Gehalt der Ausatemluft an $C^{14}O_2$. Die Versuche ergaben bei den heparinisierten Ratten eine erhöhte Ausscheidung an radioaktiv markierten CO_2 in der Ausatemluft und nach 30 Min. einen vermehrten Gehalt an markiertem Fett in den einzelnen Organen, besonders in der Leber, Milz und dem Muskelgewebe. Bei den Kontrollratten war das Ergebnis umgekehrt: Der $C^{14} O_2$ -Gehalt der Ausatemluft war verringert, die Fettkonzentration in den Organen und besonders im Blutplasma war erhöht. Die amerikanischen Versuche wurden jedoch nur an einer sehr geringen Zahl von Ratten durchgeführt, die Fette wurden nicht aufgespalten und vor allem wurden die Versuche nur über die Dauer einer halben Stunde ausgedehnt.

Thema- und Problemstellung

Es erschien uns deshalb von Interesse, die Versuche von Großman zu erweitern. Für die Fett-emulsion verwendeten wir ein besser definiertes radioaktives Fett, ein C^{14} markiertes Tripalmitat, markiert am C1-Atom der Palmitinsäure. Das Fett wurde unter Zusatz von nichtmarkiertem Tripalmitat und Triolein in einer 5%-igen Glukose-lösung emulgiert. Für die Versuche wurden 15 Rattenpaare benutzt, sie wurden mit der aktiven Fett-emulsion intravenös gespritzt. Ein Tier eines Paares wurde jeweils mit Heparin gespritzt, das andere diente als Kontrolltier. Es sollte der Grad des Ab- und Umbaues der injicierten Fette-mulsion in Abhängigkeit von der Zeit untersucht werden und ob das heparinisierte Tier gegenüber dem Kontrolltier eine merkliche Stoffwechselsteigerung zeigte. Außerdem sollte untersucht werden, ob eine erhöhte Abnahme der markierten Fettkonzentration in den Organen Leber, Lunge und Milz festgestellt werden kann. Die Höhe des Abbaues des injicierten Fettes wurde durch die Messung der ausgeatmeten, markierten Kohlensäure und die Aufnahme des markierten Fettes in die einzelnen Organe durch Analyse festgestellt. Diese Versuche wurden über verschiedene Zeitintervalle geführt. Um dem weiteren Mechanismus der Beschleunigung der Fettverwertung durch Heparin näherzukommen, wurden die aus den Organen extrahierten Fette in eine Aceton-unlösliche und Aceton-lösliche Fraktion aufgetrennt, d.h. die Phosphatide von den übrigen Fetten (in erster Linie Neutralfette und Cholesterin) abgeschieden.

Die Versuche sind besonders von Bedeutung für einige klinische Probleme, wie Therapie und Prophylaxe der Fettembolie, die Behandlung der Artherosclerose und ihre Neigung zur erhöhten Thrombosebildung. Von großem Interesse sind die Versuche für die Kachexie oder chronische Infektionskrankheiten, die nur noch eine geringe orale Nahrungsaufnahme zulassen (z.B. bei Leberschädigung). Die Zufuhr der notwendigen Kalorienmenge ausschliesslich als Kohlenhydrat in Form von Glukose ist nur in niedrigprozentigen Lösungen möglich, da hochprozentige, hypertonische das isotonische Gleichgewicht des Blutes stören. Meist kommen deshalb heute 5%-ige Dextroselösungen zur Anwendung, die jedoch den Nachteil haben, daß sie einem liegenden Patienten, der einen Kalorienbedarf von 1 500 - 2 000 Kcal hat, zu wenig Kalorien zuführen. Bei einer 5%-igen Dextroseinfusion müssten 8 - 10 l zur Deckung des täglichen Bedarfes gegeben werden, das ist jedoch wegen der Menge unmöglich.

1 g Kohlenhydrat	= 4,3 Kcal
50 g Kohlenhydrat in 1 l	= 215 Kcal
500 g Kohlenhydrat in 10 l	= 2 150 Kcal

Die Entwicklung therapeutisch verwendbarer Fett-emulsion für die parenterale bzw intravenöse Verabreichung ist deshalb von grösster Bedeutung, da 1 g Fett (9,3 Kcal) mehr als die Hälfte Kalorien besitzt als 1 g Kohlenhydrat. Gäbe man einem Liter einer 5%-igen Dextroselösung mit 215 Kcal zusätzlich 5 % Fett, also 50 g = 465 Kcal, bei,

so erhielt man schon 700 Kcal, das Dreifache der gleichen Dextrosemenge. Bei geringer oraler Nahrungsaufnahme wäre damit schon $1/2 - 2/3$ der geforderten Kalorienmenge gedeckt. Fetteemulsionen sind aber osmotisch nicht aktiv, können also noch höher konzentriert verabreicht werden.

Es erschien deshalb von Interesse, mit Hilfe der radioaktiven Fetteemulsion die Möglichkeit und Verwirklichung solcher Fragen im Tierexperiment zu untersuchen. Entscheidend ist, ob die intravenös zugeführte Fetteemulsion durch Heparininjektionen beeinflusst werden kann, vor allem im Sinne eines schnelleren Abbaues und einer Fettembolieverhütung in der Lunge.

M E T H O D I KHerstellen der radioaktiv markierten Fettemulsion:

Für die Zubereitung der Fettemulsion wurde folgende Mischung verwendet (16):

6,4 mg Glycerin-tri-(palmitat 1-C¹⁴), 13,6 mg Glyceroltripalmitat (C₁₅ H₃₁ COO) C₃ H₅. Beide Substanzen wurden in ein 20 ml Homogenisator-glas eingewogen und bei 105° Cels. verflüssigt. Sobald das Gemisch geschmolzen war, wurden 380 mg Triolein (C₁₀₄ H₁₀₄ O₆) dazu pipettiert und als emulsionsförderndes Agens 100 mg Tween 20 von Bayer/Leverk.. Dabei mußte stets darauf geachtet werden, daß das Gemisch nicht zu stark abkühlte, da sonst am Boden Ablagerungen auftraten, die auch während der Emulgierung nicht verschwanden und zu einem Substanzverlust führten. Als Verdünnungsmittel diente 9,5 ml 5%-ige Dextroselösung, so daß für jeden Versuch 10 ml 5%-ige radioaktiv markierte Fettlösung zur Verfügung stand. Im Anschluß daran wurde die Mischung mit einem hochtourigen, elektrischen Homogenisator (+) emulgiert bei einer konstanten Temperatur von 75° Cels. Der Homogenisator lief 15 Min. mit einer Maximal-tourenzahl von 50 000 U/Min. Es wurde darauf geachtet, daß die volle Geschwindigkeit nicht sofort, sondern erst im Lauf der ersten zwei Minuten erreicht wurde, um ein gleichmässiges Mischen der

(+) Homogenisator für wissenschaftliche Zwecke,
E.Bühler, Tübingen

Substanzen zu gewährleisten. Für einen Versuch reichte ein Ansatz von 10 ml Emulsion aus, da pro 100 g Körpergewicht 2 ml verwendet wurden. Die 75° Cels. heiße Emulsion kühlten wir auf 37° Cels. Körpertemperatur der Ratten ab.

Für jeden Versuch wurden zwei Albinoratten (Sprague-Dawley-Stamm) benutzt, männlichen Geschlechts, mit einem Durchschnittsgewicht von je 200 g. Dabei wurde darauf geachtet, daß sich die Versuchspaare um nicht mehr als 30 g unterschieden, möglichst gleichmäßig glattes Fell hatten, in gleichmäßigem Ernährungszustand waren und sich auch in ihrer Lebhaftigkeit nicht zu stark unterschieden, da die Vermutung besteht, daß unterschiedliches Verhalten auch unterschiedliche Stoffwechselvorgänge verursacht. Um bessere Kontrollwerte zu erzielen, wurde in den späteren Versuchen 50 ml Fettemulsion bereitet - dem beschriebenen Verhältnis entsprechend -, damit drei Tiere gespritzt werden konnten.

Eine Ratte jedes Paares diene als Kontrolltier, eine als Heparintier. Pro Kilogramm Tier wurde 1 ml Heparin (+) verwendet, was bei einem 200 g Tier einer Menge von 0,2 ml entspricht. Die Verdünnung des Ausgangsheparins, das pro ml 5 000 I.E. enthält, wurde im Verhältnis 1 : 3 mit physiologischer Kochsalzlösung angesetzt, so daß in 0,2 ml 330 I.E. enthalten waren. Die intravenöse Einspritzung erfolgte in leichter Äthernarkose in

(+) Heparin Boehring & Sohn, 1 ml = 5 000 I.E.

eine der Schwanzvenen. Um die Venen sichtbar zu machen, rieben wir den Schwanz mit Xylol ein. Zum Spritzen diente eine Tuberkulinspritze mit einer 18er Kanüle. 15 Min. nach der Injektion des Heparintieres wurden beide Ratten mit je 4 ml homogenisierter Fettemulsion gespritzt (Recordspritze), wiederum intravenös bei leichter Äthernarkose.

Gewinnung der $C^{14}O_2$ Ausatemungsluft:

Beide Ratten wurden in je einen 2,5 l Stoffwechselkäf (Glasexsiccator) mit zwei Ableitungen gesetzt. Während der Zeit des Versuches wurde der Stoffwechselkäf mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe mit CO_2 -freier Luft kontinuierlich durchströmt. Die quantitative Absorption des markierten $C^{14}O_2$ in der Ausatemungsluft wurde durch zwei hintereinander geschaltete Absorptionsfritten (G I) in 20%-iger Natronlauge gewährleistet. Um ohne großen Zeitverlust die NaOH-Lösung im Rhythmus von 15 bzw 30 Min. wechseln zu können, war hinter jeden Exsiccator ein Zweiwegehahn geschaltet. Dadurch konnten Versuche über 3, ja sogar 6 Stunden quantitativ durchgeführt werden. Jedes Tier war in einem von einander völlig getrennten System untergebracht, das von je einer Wasserstrahlpumpe betrieben wurde, die eine konstante Geschwindigkeit des Gasstromes sicherte. Bei Versuchen mit drei Tieren wurde im Anschluß an die ersten beiden das dritte Tier mit der gleichen Emulsion gespritzt. Es war damit die

Möglichkeit gegeben, einen besseren Vergleich zwischen Kontroll- und Heparintier anzustellen, da die Emulsion - in Bezug auf die Größe der emulgierten Fettpartikelchen - bei jeder Darstellung Schwankungen unterworfen war.

Bestimmung des markierten CO₂ :

Das in Natronlauge aufgefangene CO₂ gaben wir in Bechergläser, erhitzen es bis zum Sieden und fällten es unter Zusatz von Ammoniumchloridlösung (5 - 10 ml) mit 28%iger heißer Bariumchloridlösung als Bariumcarbonat. Der in Glasfiltertiegel abgesaugte Niederschlag wurde im Trockenschrank bei 105° Cels. einen Tag lang getrocknet und in einen Exsiccator gebracht. Das getrocknete Carbonat wurde gewogen, in einem Achatmörser fein zerrieben, dann mit Zaponlacklösung aufgeschwemmt, auf Aluminiummeßplättchen möglichst gleichmässig aufgegossen und mit Rotlicht getrocknet. Die aufgetragene, getrocknete Carbonatmenge wurde gewogen. Von einer Aufschwemmung wurden jeweils zwei Plättchen gegossen.

Blut- und Organgewinnung und ihre Aufbereitung:

Unmittelbar nach Beendigung des Atemversuches wurden die Tiere aus dem Glaskäfig herausgenommen und in tiefe Äthernarkose gebracht. Bei der Blutgewinnung wurden die Tiere auf ein Holzbrett aufgespannt, die Aorta freipräpariert und mit einer selbstgefertigten Glaskanüle, die in ihrer Spitze mit Natriumcitrat gefüllt war, eingestochen, kurz vor der Aufspaltung

in die beiden aa. iliaca-Äste. Das abfließende Blut wurde in einem Zentrifugenglas aufgefangen und zur Trennung von Blutkörperchen und Plasma für 10 Min. in eine Zentrifuge (5 000 U/Min.) gebracht. Durch anschließende Spülung mit 5%-iger Dextroselösung wurden die Organe entblutet.

Die Organgewinnung erfolgte bei Atemstillstand, jedoch noch pulsierendem Herzen. Dabei wurden vornehmlich Leber und Lunge herausgenommen und in einigen Fällen auch die Milz. Das ganze Organ oder ein aliquoter Teil wurden von Bindegewebe freipräpariert und jedes Organ in ein Homogenisatorglas eingewogen (Leber mit je 7,5 g, Lunge mit je 1,5 g, Milz mit 1 g). Dazu wurden die gleichen Mengen aqua bidest. gegeben und das Gemisch bei 50 000 U/Min. 2 Minuten lang elektrisch homogenisiert.

Gewinnung der markierten Gesamtfette:

Zur Fettextrahierung wurden von dem gewonnenen Homogenat 10 g in einen 500 ml austarierten Glaskolben eingewogen und unter ständigem Schütteln Bloorlösung dazugegeben (Gemisch aus 3 Teilen 96%-igem Alkohol und 1 Teil Äther). Es kamen also jedesmal 5 g Leberorgan, 1,5 g Lunge und 1 g Milz zur Untersuchung. Für das Homogenat der Leber verwendeten wir 500 ml, der Lunge und Milz je 300 ml Bloor. Das Gemisch wurde für eine Stunde in einem Rückflusskühler bei 75° Cels. im Thermostaten erhitzt und damit das Gesamtfett extrahiert.

Die Lösung wurde dann durch einen Filter abdekantiert, der Rückstand mit Chloroform und Methylalkohol (1 : 5) übergossen und weitere 30 Min. bei konstanter Temperatur von 75° Cels. im Rückflusskühler gehalten. Anschliessend gaben wir die Lösung durch das gleiche Filter und brachten das gesammelte Filtrat im Wasserstrahlvacuum bei 50° Cels. zur Trockne. Der verbliebene Rückstand wurde nochmals mit 20 ml 96%-igem Alkohol übergossen und wiederum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand enthielt die markierten Gesamtfette, die in Petroläther (30 - 50°) gelöst und in ein Meßkölbchen von 25 ml aufgefüllt wurden.

Gewinnung der mark. Neutralfette und Phosphatide:

Nach der Messung der Radioaktivität der Gesamtfette wurde von der Lösung ein aliquoter Teil (16 ml) abpipettiert und fast bis zur Trockne eingedampft. Der auf 0° Cels. gebrachte Rest wurde mit eiskaltem Aceton (30 ml) in kleinen Portionen vorsichtig unter ständigem Rühren versetzt. Dabei blieben die Neutralfette in Lösung, die Phosphatide fielen als feinflockiger Niederschlag aus. Damit die Trennung vollständig gelang, stand das Gemisch ein bis zwei Tage im Eisschrank, erst dann wurde der Überstand abpipettiert und in ein Becherglas filtriert. Der Rückstand der Phosphatide wurde nochmals mit 15 ml Aceton versetzt, stehengelassen, abpipettiert, durch dasselbe Filter gegeben und die Lösung der Neutralfette auf dem Wasserbad bis zur Trockne eingedampft. Der verbleibende Rückstand der Neutralfette wurde

in Petroläther (30 - 50°) gelöst und in ein Meßkölbchen auf 10 ml aufgefüllt. Die ausgefällten Phosphatide wurden auf dem Wasserbad getrocknet, ebenfalls in Petroläther (30 - 50°) gelöst und in ein Meßkölbchen auf 10 ml aufgefüllt.

Die Lösungen der Gesamtfette, der Neutralfette und der Phosphatide gaben wir auf Aluminiumplättchen mit Rand (2,5 cm Durchmesser, 3 mm hoch). Auf jedes Meßplättchen, das zur besseren Verteilung der Fette mit Lenspaper/Josta ausgelegt war, wurden 0,5 ml Lösung mit einer Fortunakolbenpipette aufgetragen. Von jeder Lösung wurden zwei Plättchen gegossen.

Gewinnung der Trockensubstanz:

Für die Bestimmung der Trockensubstanz der Neutralfette und Phosphatide wurden 5 ml der Lösungen in ein abgewogenes Wägegläschen einpipettiert, auf dem Wasserbad eingedampft, anschliessend im Trockenschrank bei 105° Cels. bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen.

Die Radioaktivitätsmessung der Fette:

Die Messung der Radioaktivität der Fette erfolgte nach der direkten Methode von Entenman and Dauben (17). Sie erfolgte im Methandurchflussszähler (+) mit einer Bläschengeschwindigkeit von 120/Min. und einer Discriminatorstellung 7.

(+) Methandurchflussszähler von Friesseke & Höpfner, Erlangen.

Bei den Gesamtfetten waren von jeder Lösung zwei Plättchen gegossen worden, jedes Plättchen wurde mehrere Male hintereinander je eine Minute gemessen. Aus den Meßergebnissen wurde der Mittelwert errechnet. Der Nullwert (20 Impulse/Min.) konnte wegen der hohen Aktivität unberücksichtigt bleiben.

Die Bestimmung der Neutralfette und Phosphatide erfolgte auf genau die gleiche Art. Allerdings berücksichtigten wir hier den Nullwert, da die Impulse bei diesen Messungen niedriger lagen.

Messung der Radioaktivität der Carbonate:

Die Messung der Radioaktivität der Carbonate erfolgte in einem Geiger-Müller-Zähler (+). Die Registrierung der Impulse wurde mit einem Zählgerät mit Glimmerfensterzählrohr dünner Belegung ($1,0 \text{ mg/cm}^2$) vorgenommen.

Jedes Carbonatplättchen wurde 10 mal je eine Minute gemessen und daraus der Mittelwert errechnet. Vor und nach jeder Messung wurden der Nullwert und der Folienwert mit einer Polyvenylfolie konstanter Aktivität bestimmt, um die einzelnen Werte miteinander vergleichen zu können. Im Anschluß wurde der Nullwert von dem errechneten Mittelwert abgezogen und der hieraus hervorgegangene Wert mit dem Folienfaktor multipliziert. Die Messungen erfolgten hintereinander ohne zeitliche Unterbrechung.

(+) Geiger-Müller-Zähler FH 49, Friesseke & Höpfner, Erlangen.

Umrechnen der Meßergebnisse des Carbonats:

Bei der Umrechnung auf die Gesamtaktivitätsmenge des Carbonats mussten folgende Werte berücksichtigt werden: Die Oberfläche des verwendeten Plättchens ($4,91 \text{ cm}^2$), die aufgetragene Carbonatmenge in mg, die Impulszahl/Min., die Gesamtmenge des Carbonats. Aus Gewicht und Oberfläche wurde die Plättchenbelegung in mg/cm^2 ermittelt:

$$\frac{\text{Gew. d. Carbonatmenge d. Plättchens in mg}}{\text{Oberfläche des Plättchens}} = \text{mg/cm}^2$$

Aus diesem Wert wurde auf einer Tabelle (18) die Selbstabsorption für Bariumcarbonat abgelesen. Der gefundene Wert wurde in Verhältnis zu den erhaltenen Impulsen/Min. gesetzt. Der Quotient ergibt die korrigierte Impulszahl/Min. Schließlich wurde auf die Gesamtmenge des Carbonats umgerechnet durch Multiplikation mit der korrigierten Impulszahl. Das Ergebnis lieferte die Impulszahl/Min. für die Gesamtcarbonatmenge.

Beispiel:

23 mg	= aufgetragene Carbonatmenge
$4,91 \text{ cm}^2$	= Plättchenoberfläche
123 Imp./Min.	= durchschnittliche Impulszahl
4,7 g	= Gesamtmenge des Carbonats

$$\frac{23 \text{ mg}}{4,91 \text{ cm}^2} = 4,79 \text{ mg/cm}^2$$

4,79 mg/cm² entsprechen nach der Tabelle (18)
0,54 % Aktivitätseinheiten.

$$\frac{123 \text{ Imp./Min.}}{0,54} = 226 \text{ Imp./Min.}$$

$$\frac{226 \text{ Imp./Min.} \cdot 4,7 \text{ g}}{23 \text{ mg}} = 46 \text{ 050 Imp./Min.} (4,6 \cdot 10^4)$$

=====

Umrechnen der Meßergebnisse für Gesamtfette:

Die Gesamtfette waren in 25 ml gelöst, davon wurden 0,5 ml gegossen - also der 50. Teil -. Zu multiplizieren ist die gemessene, durchschnittliche Impulszahl mit 50, um die Impulse/Min. für die Gesamtmenge der Gesamtfette zu bekommen.

Umrechnen der Meßergebnisse für Neutralfette und Phosphatide:

Ausgangslösung waren die 25 ml Gesamtfette, hiervon wurden 16 ml abgefüllt, eingedampft und in Meßkölbchen mit Petroläther auf 10 ml aufgefüllt, 0,5 ml auf die Plättchen gegossen - also der 20. Teil -. Für die Gesamtmenge der Neutralfette und Phosphatide ergab sich daraus:

$$\frac{\text{Gemessene Imp./Min.} \cdot 20 \cdot 25}{16} = \begin{array}{l} \text{Imp./Min. für die} \\ \text{Gesamtmenge an} \\ \text{Phosphatiden bzw.} \\ \text{Neutralfetten} \end{array}$$

Berechnung der Ausbeute:

Die Addition der Impulszahlen von Neutralfetten und Phosphatiden musste theoretisch die Impulszahl der Gesamtfette ergeben. Durch den Arbeitsgang der Auftrennung trat jedoch meist ein geringer Substanzverlust ein, so daß der Wert der Gesamtfette nur selten erreicht wurde. Der Verlust wurde prozentual durch die Berechnung der Ausbeute von Neutralfetten und Phosphatiden gegenüber den Gesamtfetten bestimmt.

$$\frac{\text{Phosphatide} + \text{Neutralfette}}{\text{Gesamtfette}} \cdot 100 = \text{Ausbeute in \%}$$

Bei z.B. 88 % Ausbeute trat ein Verlust von 12 % ein.

Aufstellen von Kurven und Tabellen:

Die Ergebnisse der Fettwerte wurden in einer Tabelle zusammengefasst - Heparin- und Kontrolltierwerte stehen zum Vergleich nebeneinander -. Aufgeführt wurden markierte Gesamtfette, Neutralfette, Phosphatide, Ausbeute, das Verhältnis von Neutralfett (N) zu Phosphatid (P), wobei $N = 1$ gesetzt wurde und als Abschluß die Aktivität der Trockensubstanz/mg. Von der Gesamtmenge 10 ml Phosphatid bzw. Neutralfett wurden 5 ml eingedampft:

$$\frac{\text{Imp./min. von N bzw. P}}{\text{mg} \cdot 2} = \frac{\text{Akt/mg Trockensubstanz}}{(\text{Spez. Aktivität})}$$

Die errechneten Impulszahlen für die Gesamtmenge der Carbonate wurden in Abhängigkeit zur Zeit in Kurven aufgezeichnet (in der Ordinate die Zeit, in der Abscisse die Imp./Min.). Heparin- und Kontrollwert eines Paares stehen zum Vergleich in einer Zeichnung.

Bestimmung der Emulsionsaktivität:

Nach jedem Versuch wurde die Aktivität der verwendeten Emulsion gemessen und auf das durchschnittliche Gewicht einer Ratte von 200 g berechnet. Die Emulsion verdünnten wir im Verhältnis 1 : 10 (auf 0,5 ml Emulsion 4,5 ml 5%-ige Dextrose), pipettierten 0,5 ml auf ein mit Lenspaper/Josta belegtes Aluminiumplättchen mit Sand, trockneten es an der Luft und maßen die Impulszahl/Min. im Methandurchflusszähler. Da es sich um eine 20-fache Verdünnung pro ml handelte und jedem Tier 4 ml injiziert wurden, ergab sich folgende Rechnung:

$$\text{Gem. Imp./Min.} \cdot 20 \cdot 4 = \text{Emulsionsaktivität/Tier.}$$

Zeitliche Anordnung der Versuche:

Um die unterschiedlichen Ergebnisse der Stoffwechseluntersuchungen des Heparintieres gegenüber dem Kontrolltier und den maximalen Effekt des Heparins zu zeigen, erfolgte eine zeitliche Aufteilung der Versuche über 30, 60, 90, 120 und 180 Minuten.

ER G E B N I S S E

In unseren Versuchen wurde der Gehalt an radioaktiv markierten Gesamtfetten, Neutralfetten und Phosphatiden in Leber und Lunge nach intravenöser Injektion einer radioaktiv markierten Fettemulsion bestimmt. Die Untersuchungen des markierten Fettgehaltes erfolgten in diesen Organen an 15 Rattenpaaren nach 30, 60, 90, 120 und 180 Minuten. Der Gehalt an markierten Fetten in der Milz wurde einmal nach 180 Minuten bestimmt. Ergänzend hierzu wurde der $C^{14} O_2$ Gehalt der Ausatemungsluft der Ratten in zwei Fällen bestimmt.

Die Ergebnisse des markierten Fettgehaltes in der Leber.

Die Leber nimmt einen großen Teil des injizierten, radioaktiv markierten Fettes in ihren Zellen auf. Teils wird es dort abgelagert, teils verbrannt. Die Untersuchung des markierten Fettgehaltes in der Leber von Heparin- und Kontrolltier erfolgte erstmals 30 Minuten nach der Injektion der Fettemulsion. Dabei stellten wir fest, daß ca. 30 % des injizierten Fettes in der Leber nachzuweisen war. (Tabelle A)

Die Tabelle 1 zeigt, daß die heparinisierten Ratten 30 Minuten nach der Injektion weniger markiertes Fett in ihrer Leber aufweisen als die Kontrolltiere. Die Fettanreicherung ist insgesamt bei Kontrolltier und Heparintier außerordentlich hoch.

Z e i t

30 Minuten

Laufende Nr.		1	2	3
Gesamtfette G	K	15,15	9,64	20,91
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	13,84	a) $\frac{6,80}{8,01}$ b)	18,13
Neutralfette N	K	13,65	8,30	19,85
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	11,55	a) $\frac{5,10}{3,94}$ b)	12,70
Phosphatide P	K	1,70	2,02	3,32
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	4,20	a) $\frac{1,89}{1,32}$ b)	2,40
Verhältnis N : P	K	1:0,126	1:0,244	1:0,168
	H	1:0,37	a) 1:0,37 b) 1:0,334	1:0,189

Tab. 1: Fettgehalt in der Leber (je 5 g) von Kontrollratte (K) und Heparinratte (H) nach 30 Minuten (Abb. 1)

Durch die intravenöse Heparinverabreichung ist bei den Heparinratten der Gehalt sowohl an markierten Gesamtfetten als auch Neutralfetten und Phosphatiden geringer als bei den Kontrolltieren. Die Verminderung des Fettgehaltes im Heparintier gegenüber dem Kontrolltier spricht für eine gesteigerte Verbrennung und einen beschleunigten Abtransport in die Depots. Auch die aus den markierten Gesamtfetten isolierten Neutralfette zeigen eine Verminderung bei den Heparintieren gegenüber

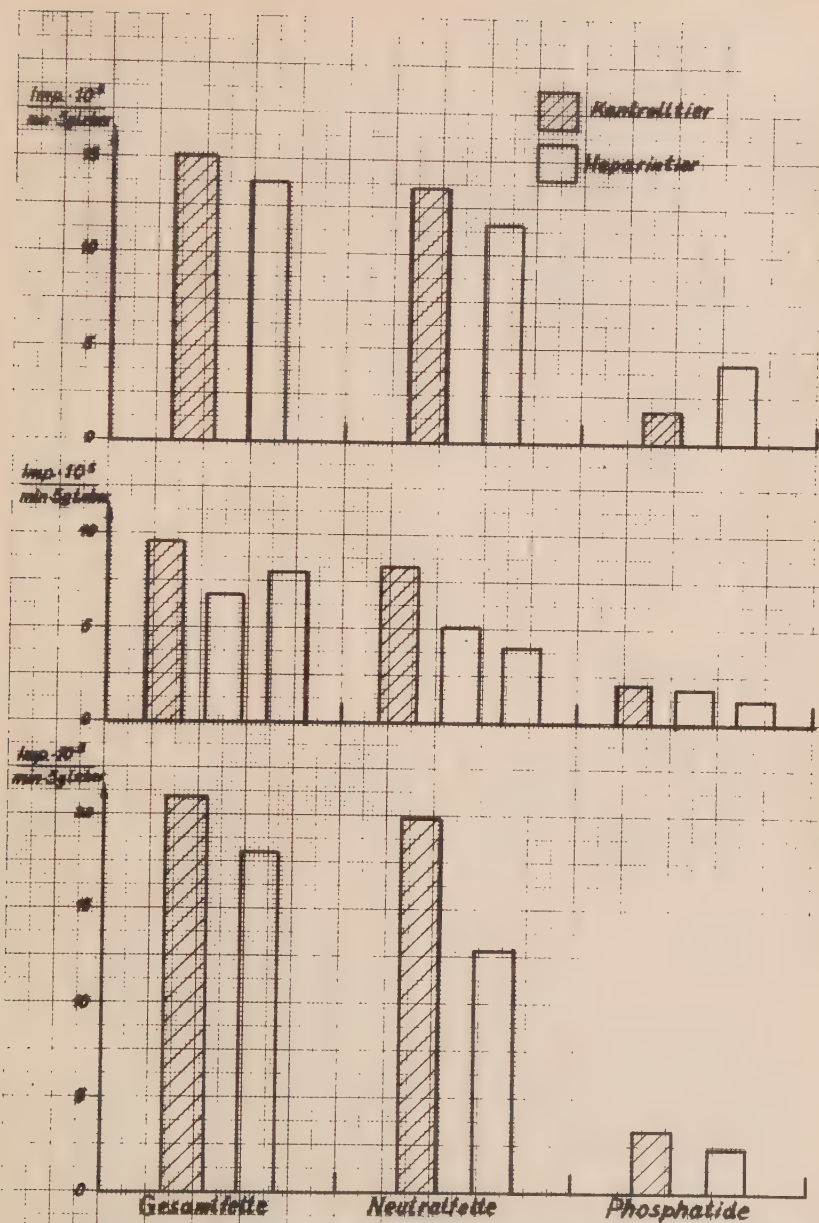


Abb.1: Radioaktiv markierter Fettgehalt in der Leber nach 30 min. Versuchsdauer (3 Versuche).

den Kontrolltieren. Der Gehalt an markiertem Phosphatid zeigt nach 30 Minuten einen kleineren Wert in der Leber des Heparintieres. Jedoch findet sich bei einem Versuch, daß in der Leber der Gehalt an markierten Phosphatiden bei dem Heparintier grösser ist als bei dem Kontrolltier. Das Verhältnis von markierten Neutralfetten und Phosphatiden erhöht sich bei den Heparintieren aller drei Versuchsgruppen. Die Ausbeute beträgt bei der Addition von Neutralfett und Phosphatid fast 100 %.

Die Tabelle 2 zeigt den Gehalt an markiertem Fett in der Leber der Heparin- und Kontrollratten nach 60 Minuten. Zwei Tiere wurden heparinisiert. Ein Tier diente zur Kontrolle. Die Tabelle zeigt, daß der Gehalt an radioaktiv markierten Gesamtfetten nach 60 Minuten höher ist als nach 30 Minuten. Das Maximum des markierten Fettgehaltes in der Leber scheint zwischen 30 und 60 Minuten nach der intravenösen Injektion zu liegen. Auch hier zeigt sich eine deutliche Erniedrigung des Gehaltes an markierten Gesamtfetten des Heparintieres gegenüber dem Kontrolltier. Die Ausbeute an markiertem Neutralfett gegenüber den Gesamtfetten ist im Vergleich beim Versuch über 30 Minuten verringert. Dagegen zeigt sich bei den Werten für die markierten Phosphatide auch hier schon teilweise eine Vermehrung gegenüber dem Kontrolltier. Das Verhältnis von Neutralfett zu Phosphatid ist bei den beiden Heparintieren erhöht. Die Summe von abgetrenntem Neutralfett und isoliertem Phosphatid beträgt 90 %.

Z e i t

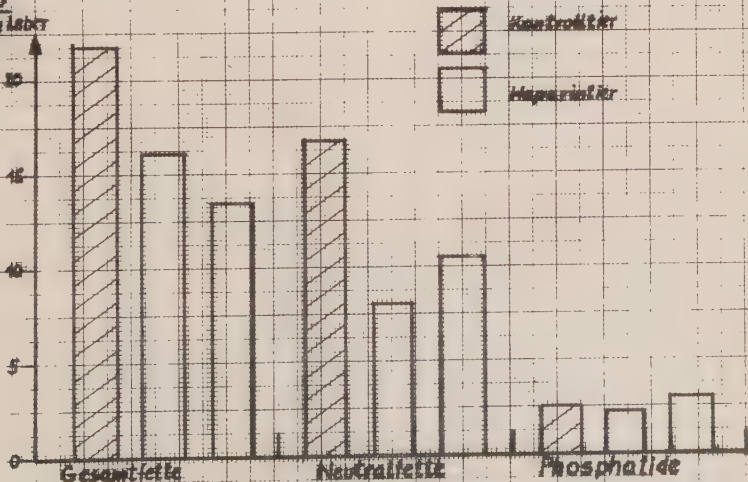
60 Minuten

Laufende Nr.		4
Gesamtfette G	K	21,77
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	a) 16,16 b) 13,46
Neutralfette	K	16,88
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	a) 8,02 b) 10,57
Phosphatide	K	2,63
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	a) 2,26 b) 3,00
Verhältnis	K	1 : 0,156
N : P	H	a) 1:0,282 b) 1:0,285

Tab. 2:

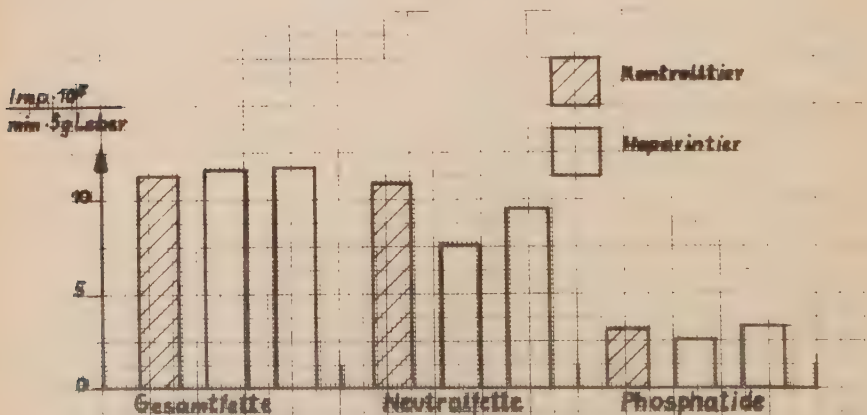
Fettgehalt in der
Leber (je 5 g) von
Kontrollratte (K)
und Heparinratten (H)
nach 60 Minuten.

Abb. 2

 $\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g Leber}}$


**Abb. 2: Radioaktiv markierter Fettgehalt in der Leber
nach 60 min. Versuchsdauer.**

Die Tabelle 3 zeigt nach 90 Minuten sowohl bei den Heparin- als auch den Kontrollratten einen erheblich verminderten Gehalt an markiertem Fett in der Leber, das bedeutet, daß ein großer Teil der injizierten Fettemulsion schon abgebaut und abtransportiert ist. Weiterhin ist bemerkenswert, daß zu diesem Zeitpunkt die Werte für radioaktiv markierte Gesamtfette bei Heparintier und Kontrolltier in der gleichen Größenordnung liegen. Die Werte für die radioaktiv markierten Neutralfette weisen dagegen einen verminderten Gehalt bei den Heparintieren gegenüber dem Kontrolltier auf. Der Phosphatidgehalt zeigt aber - wie auch bei 60 Minuten Versuchsdauer - teilweise einen vermehrten Gehalt an markierter Substanz bei den Heparintieren gegenüber dem Kontrolltier. Das Verhältnis von Neutralfetten zu Phosphatiden ist aber stets deutlich bei den heparinisierten Ratten erhöht. Die Ausbeute der markierten Neutralfette und Phosphatide aus den Gesamtfetten beträgt 89,5 %.



**Abb.3: Radioaktiv markierter Fettgehalt in der Leber
nach 90 Min. Versuchsdauer.**

Z e i t

90 Minuten

Laufende Nr.		5
Gesamtfette G	K	11,29
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	a) 11,70 b) 11,81
Neutralfette	K	10,9
$\frac{\text{Imp.}^N \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	a) 7,57 b) 9,6
Phosphatide	K	3,1
$\frac{\text{Imp.}^P \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	a) 2,62 b) 3,2
Verhältnis	K	1 : 0,283
N : P	H	a) 1:0,346 b) 1:0,322

Tab. 3:

Fettgehalt in der
Leber (je 5 g) von
Kontrollratte (K)
und Heparinratten (H)
nach 90 Minuten.

Abb. 3

In der Tabelle 4 sind die entsprechenden Werte nach einer Versuchsdauer von 120 Minuten aufgezeigt. Auch hier hat eine weitere Abnahme des Gehaltes an markiertem Fett stattgefunden. Die Höhe der radioaktiv markierten Fettkonzentration beträgt sowohl bei den Heparinratten als auch dem Kontrolltier fast nur noch die Hälfte gegenüber dem 90-Minuten-Versuch. Die Werte der markierten Gesamtfette von Heparintier und Kontrolltier sind auch bei dieser Versuchsdauer wieder gleich. Bei der Aufspaltung der markierten Gesamtfette in Neutralfette und Phosphatide sind die Neutralfette beim Heparintier vermindert, der Gehalt an markiertem Phosphatid ist jedoch beim Heparintier vermehrt gegenüber der Kontrollratte. Die Ergebnisse über 120 Minuten

Z e i t

120 Minuten

Laufende Nr.		6
Gesamt G fette	K	6,86
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	6,86
Neutralf N fette	K	4,05
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	3,65
Phosphatide P	K	2,71
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	2,80
Verhältnis	K	1 : 0,67
N : P	H	1 : 0,77

Tab. 4:

Fettgehalt in der
Leber(je 5 g) von
Kontrollratte(K)
und Heparinratte (H)
nach 120 Minuten.

Abb. 4

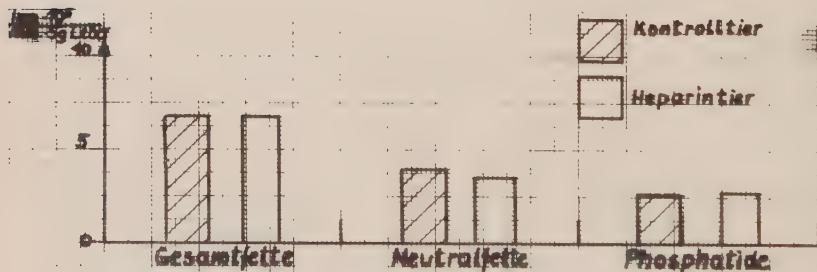


Abb. 4: Radioaktiv markierter Fettgehalt in der Leber
nach 120 min Versuchsdauer.

gleichen damit denen über 90 Minuten. Allerdings ist der gesamte markierte Fettgehalt bei Kontroll- und Heparintier fast um die Hälfte verringert gegenüber der Versuchsdauer über 90 Minuten. Das Verhältnis von markierten Neutralfetten zu Phosphatiden ist aber stets bei den heparinisierten Ratten erhöht. Die Ausbeute von Neutralfett und Phosphatid aus dem Gesamtfett beträgt 94 %.

In der Tabelle 5 sind die entsprechenden Werte nach einer Versuchsdauer von 180 Minuten aufgezeigt. Der Gehalt an radioaktiv markiertem Fett in der Leber ist wiederum bei allen Tieren erheblich gesunken. Die Verminderung ist jedoch gegenüber den anderen Versuchen nicht mehr so beträchtlich, da der Abbau jetzt im Verlauf einer Stunde verfolgt wurde. Der Abbau zwischen 90 und 120 Minuten war in der halben Zeit doppelt so groß, so daß er im Verlauf einer Stunde bis 180 Minuten um das Vierfache größer war. Der verlangsamte Abbau zwischen 120 und 180 Minuten ist als Zeichen für ein geringeres Fettangebot aus dem Blut zu werten. Die markierten Gesamtfette und Neutralfette sind bei Versuch 7 und 8 bei den Heparintieren vermindert. Die Phosphatide sind bei Versuch 8 und 9 gering vermehrt bei den Heparintieren. Bei Versuch 7 ist keine Vermehrung der markierten Phosphatide im Heparintier gegenüber dem Kontrolltier festzustellen. Im Versuch 9 ist das Verhältnis von Neutralfett zu Phosphatid zum Unterschied zu den bisherigen Versuchen bei dem Heparintier erniedrigt. Bei diesem Versuch ist auch der Gehalt an markiertem Gesamtfett des Heparintieres

um 54 % höher als der des Kontrolltieres. Die Neutralfette sind um mehr als das Doppelte erhöht gegenüber dem Kontrolltier.

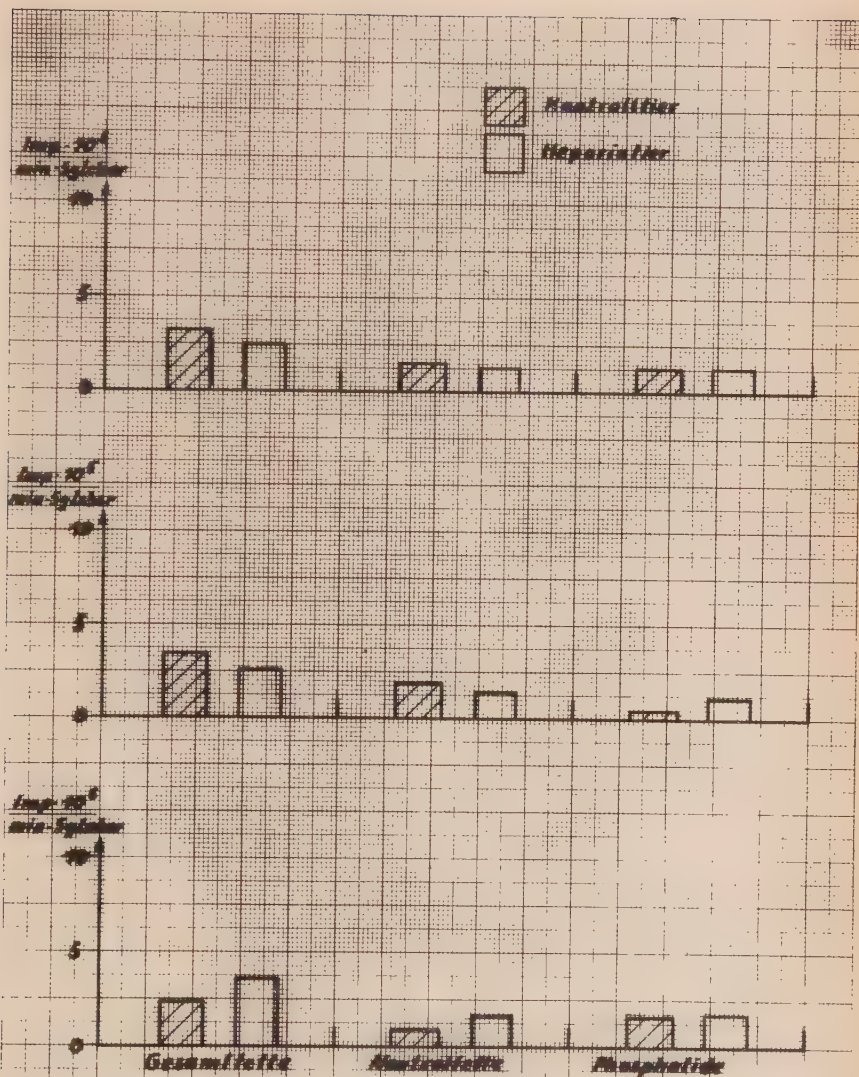
Z e i t

180 Minuten

Laufende Nr.		7	8	9
Gesamtfette G	K	3,19	3,41	2,30
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	2,86	2,75	3,55
Neutralfette N	K	1,67	2,10	0,865
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	1,27	1,76	1,88
Phosphatide P	K	1,28	0,41	1,60
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	1,25	1,02	1,66
Verhältnis N : P	K	1:0,769	1:0,19	1:1,85
	H	1:0,987	1:0,56	1:0,88

Tab. 5: Fettgehalt in der Leber(je 5 g) von Kontrollratte (K) und Heparinratte (H) nach 180 Minuten. Abb. 5

Die Tabelle 6 zeigt ebenfalls einen Versuch über 180 Minuten, jedoch mit dem Unterschied, daß Heparin- und Kontrolltier die radioaktiv markierte Fett-emulsion paravenös gespritzt bekam. Die Heparininjektion erfolgte intravenös. Beide Tiere hatten das gleiche Gewicht und erhielten die übliche Menge von 4 ml Fettemulsion.



**Abb. 5: Radioaktiv markierter Fettgehalt in
der Leber nach 180 min. Versuchsdauer
(3 Versuche)**

Z e i t

180 Minuten

Laufende Nr.		10
Gesamtfette G	K	0,266
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	0,249
Neutralfette	K	0,172
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	0,145
Phosphatide	K	0,118
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 5 \text{ g}}$	H	0,107
Verhältnis	K	1 : 0,68
N : P	H	1 : 0,74

Tab. 6:

Fettgehalt in der Leber (je 5 g) von Kontrollratte (K) und Heparinratte (H) nach 180 Minuten bei paravenöser Injektion der Fett-emulsion.

Abb. 6

Der Gehalt an radioaktiv markierten Fetten in der Leber ist um eine Zehnerpotenz verringert gegenüber den übrigen 180-Minuten-Versuchen. Das erklärt sich aus der verlangsamten Resorption des injizierten Fettes aus dem Gewebe in das Blut und aus der Zurückhaltung des Fettes im Gewebe. Die Ergebnisse sind im übrigen mit denen der anderen 180-Minuten-Versuche identisch.

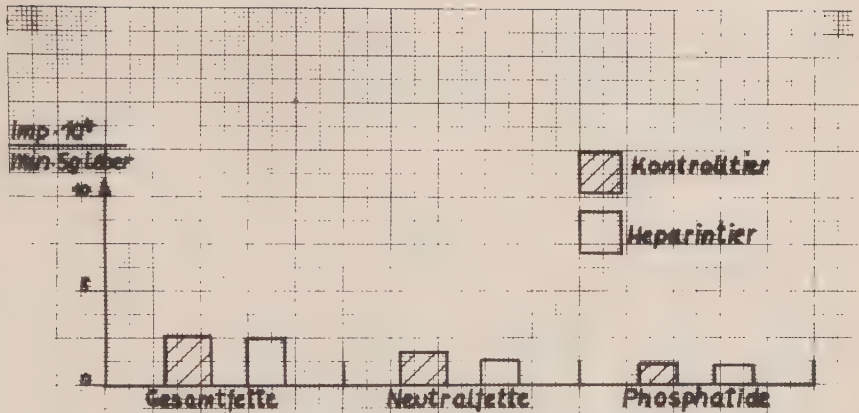


Abb. 6: Radioaktiv markierter Fettgehalt in der Leber nach 180 min Versuchsdauer (paravenös).

Die Ergebnisse des markierten Fettgehaltes in der Lunge:

Die Bestimmung des Gehaltes an radioaktiv markiertem Fett in der Lunge erfolgte an denselben Tieren, die auch zur Bestimmung des Leberfettgehaltes dienten. Damit waren die Ausgangsverhältnisse gleich. Die Analyse erfolgte nach 30, 60, 90, 120 und 180 Minuten. Das Gewicht der Lunge schwankte zwischen 1,2 und 2,4 g, jeweils 1 g kamen zur Einwaage und Analysierung (Tabelle B).

Z e i t

30 Minuten

Laufende Nr.		1	2
Gesamt fette G	K	1,60	0,791
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	4,48	a) 0,737 b) 0,619
Neutralf fette	K	0,97	0,72
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	2,24	a) 0,63 b) 0,5
Phosphatide	K	0,196	0,19
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	0,136	a) 0,104 b) 0,132
Verhältnis	K	1 : 0,2	1 : 0,263
N : P	H	1 : 0,6	a) 1:0,165 b) 1:0,264

Tab.7: Fettgehalt in der Lunge (je 1 g) von Kontrollratten (K) und Heparinratte (H) nach 30 Minuten. Abb 7.

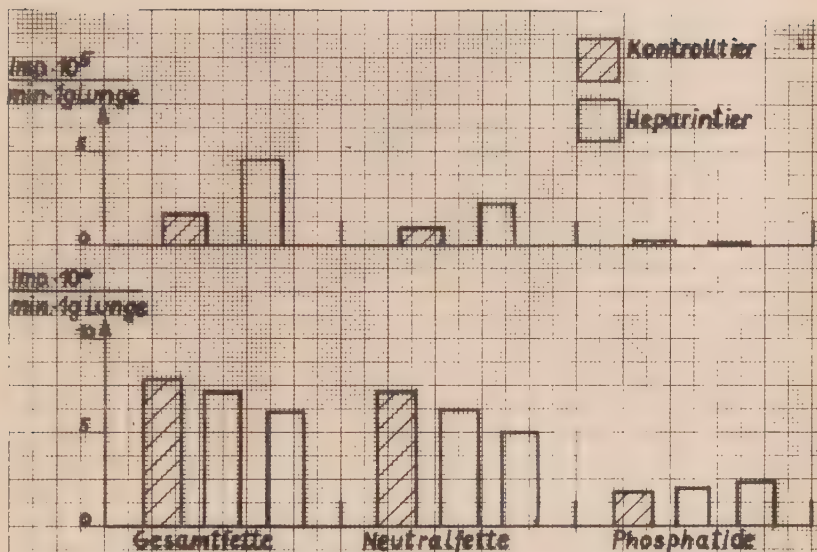


Abb. 7: Radioaktiv markierter Fettgehalt in der Lunge nach 30 min. Versuchsdauer (2 Versuche).

Die Tabelle 7 zeigt den Gehalt des radioaktiv markierten Fettes in der Lunge nach 30 Minuten an zwei Versuchsgruppen. Das Paar 1 weist einen erhöhten Gehalt an markiertem Gesamtfett in der Lunge des heparinisierten Tieres auf gegenüber dem Kontrolltier. Offensichtlich ist 30 Minuten nach der Injektion der Effekt des Heparins noch nicht zur vollen Auswirkung gekommen. Der Gehalt an markiertem Neutralfett beim Heparintier ist ebenfalls erhöht. Allerdings ist die

Heparinwirkung auch bei den anderen Versuchen gering. Der Gehalt an markierten Gesamtfetten ist sonst jedoch bei den Heparintieren stets geringer als bei den Kontrolltieren. Das trifft ebenfalls zu bei den markierten Neutralfetten und Phosphatiden. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den Versuchsergebnissen bei der Leber.

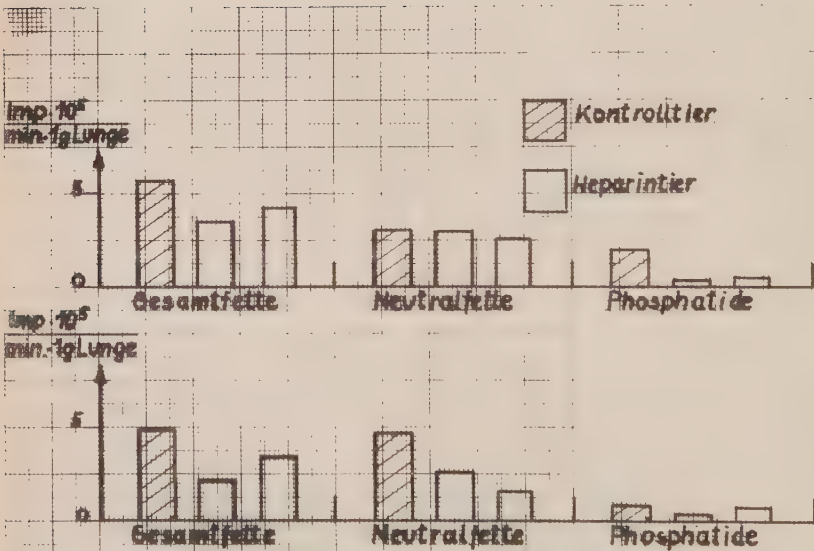


Abb. B.9: Radioaktiv markierter Fettgehalt in der Lunge nach 60 u. 90 min. Versuchsdauer.

Z e i t 60 Minuten 90 Minuten

Laufende Nr.		3	4
Gesamtfette G	K	5,78	4,99
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	a) $\frac{3,52}{4,24}$ b)	a) $\frac{2,15}{3,37}$ b)
Neutralfette N	K	3,15	4,76
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	a) $\frac{3,03}{2,66}$ b)	a) $\frac{2,59}{1,52}$ b)
Phosphatide P	K	1,99	0,91
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	a) $\frac{0,349}{0,499}$ b)	a) $\frac{0,415}{0,805}$ b)
Verhältnis	K	1 : 0,127	1 : 0,192
N : P	H	a) $\frac{1:0,133}{1:0,165}$ b)	a) $\frac{1:0,272}{1:0,312}$ b)

Tab. 8 und 9: Fettgehalt in der Lunge (je 1 g) von Kontrollratte (K) und Heparinratte (H) nach 60 und 90 Minuten. Abb. 8 und 9.

Nach 60 Minuten ist der Anstieg des Gehaltes an markiertem Fett in der Lunge merklich vermehrt, und zwar sowohl bei den Heparin- als auch Kontrollratten, wie die Tabelle 8 zeigt. Die Heparintiere zeigen eine merkliche Verminderung an markiertem Fett, sowohl Gesamtfett, als auch Neutralfett und Phosphatid gegenüber dem Kontrolltier.

Die Tabelle 9 zeigt den Gehalt an radioaktiv markiertem Fett nach 90 Minuten. Die Höhe des

Fettgehaltes ist nicht wesentlich verringert gegenüber dem 60-Minuten-Versuch. Das mag an dem anhaltend starken Angebot an markiertem Fett aus dem Blut liegen und dem relativ langsamen Abbauprozess des Fettes in der Lunge gegenüber der Leber. Allerdings sind auch nach 90 Minuten die Werte für den Gehalt an markierten Gesamtfetten, Neutralfetten und Phosphatiden der Heparintiere gegenüber dem Kontrolltier vermindert. Das Verhältnis von Neutralfett zu Phosphatid ist wie bei den Versuchen über 30 und 60 Minuten für die Heparintiere erhöht. Es ist auffallend, daß bis zu 90 Minuten der Gehalt an markierten Phosphatiden in der Lunge bei den heparinisierten Tieren gegenüber den Kontrolltieren prozentual stärker vermindert ist als in der Leber. Die Leber zeigte diesen Effekt nicht. Offensichtlich ist der Abbauprozess der markierten Phosphatide in der Lunge unter dem Einfluß des Heparins stärker als in der Leber.

Die Tabelle 10 zeigt den Gehalt an markierten Fetten in der Lunge nach 120 Minuten. Auffällig ist die starke Verminderung des Fettgehaltes bei beiden Tieren gegenüber den vorherigen Ergebnissen. Der Rückgang des Fettgehaltes in der Lunge sowohl bei Heparin- als auch Kontrolltier zeigt, daß die anfängliche Überflutung der Lunge mit Fett zurückgegangen ist, daß bei beiden Tieren endogenes Heparin mobilisiert wurde und jetzt ein intensiver Abbau vor sich ging. Dabei ist der Gehalt an markierten Fetten des Heparintieres erheblich vermindert gegenüber dem Kontrolltier; es handelt sich um den Effekt des gespritzten

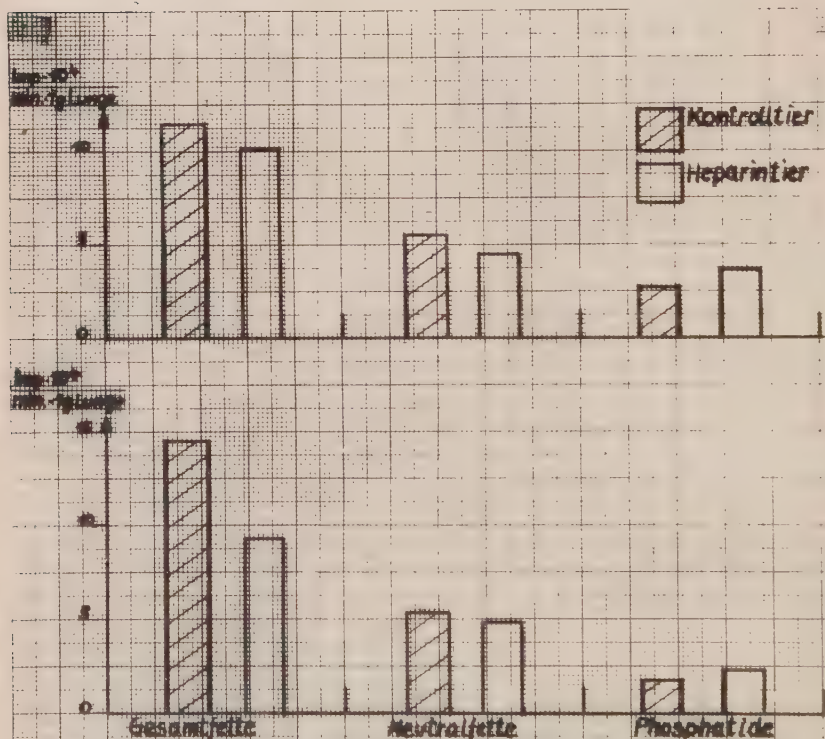
Heparins, der sich dem schon vorhandenen Abbauprozess noch aufpflanzt. Das Verhältnis von Neutralfetten zu Phosphatiden ist für das Heparintier erhöht.

Z e i t		120 Minuten	180 Minuten
Laufende Nr.		5	6
Gesamtfette G	K	1,15	1,45
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	1,01	0,92
Neutralfette N	K	0,548	0,53
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	0,482	0,49
Phosphatide P	K	0,287	0,188
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	0,375	0,237
Verhältnis	K	1 : 0,52	1 : 0,35
N : P	H	1 : 0,78	1 : 0,48

Abb. 10 und 11: Fettgehalt in der Lunge (je 1 g) von Heparintier (H) und Kontrolltier (K) nach 120 und 180 Minuten.
Abb. 10 und 11.

Die Tabelle 11 zeigt, daß sich der Fettgehalt nach 180 Minuten gegenüber 120 Minuten nicht mehr wesentlich verändert hat. Das bedeutet, daß der Stoffwechsel der Lunge in der letzten Stunde erheblich zurückgegangen ist, verglichen mit dem intensiven Abbauprozess zwischen 60 und 90 Minuten, wo das Maximum zu suchen ist. Der Grund für den reduzierten Gehalt an markierten Fetten ist der bereits erfolgte Abbau und das

immer geringere Angebot an markiertem Fett aus dem Blut. Jedoch ist der Stoffwechsel in der Lunge des heparinisierten Tieres immer noch intensiver als der des Kontrolltieres. Das Verhältnis von Neutralfett zu Phosphatid ist für das Heparintier höher.



**Abb. 10, 11: Radioaktiv markierter Fettgehalt in der Lunge
nach 120 u. 180 min Versuchsdauer.**

Die Tabelle 12 zeigt den paravenös gespritzten Versuch nach 180 Minuten in der Lunge. Die Ergebnisse zeigen ähnliche Verhältnisse wie in der Leber dieser Tiere. Der markierte Fettgehalt ist um eine Zehnerpotenz geringer als bei den übrigen Versuchen. Trotz des geringen Gehaltes an markiertem Fett ist dennoch die Wirkung des Heparins nicht zu übersehen. Daß bei dem Neutralfett des Heparintieres keine Erniedrigung des markierten Fettgehaltes zu finden ist, mag mit dem ohnehin schon geringen Gehalt an Fett zusammenhängen, auf Grund der paravenösen Injektion. Wir können also sagen, daß auch bei paravenösen Fettinjektionen der Effekt des intravenös gespritzten Heparins im Sinne einer Beschleunigung des Fettabbaues wirkt.

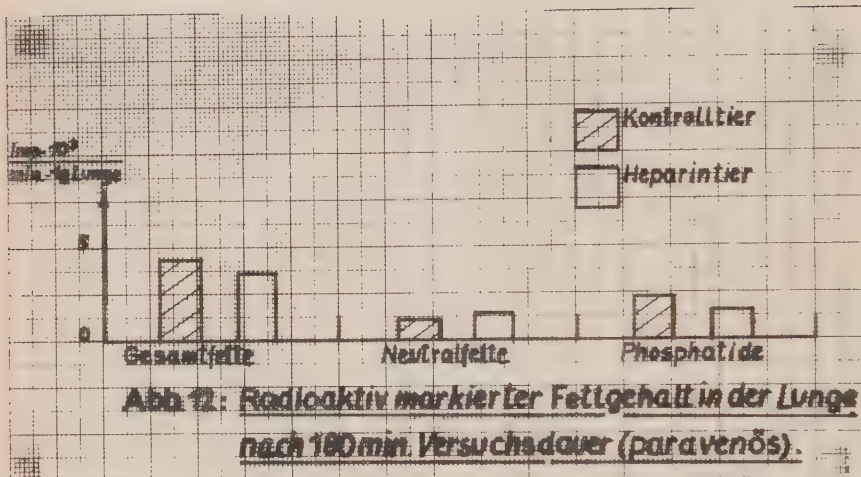
Z e i t 180 Minuten

Laufende Nr.		7
Gesamtfette G	K	0,043
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	0,037
Neutralfette	K	0,011
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	0,013
Phosphatide	K	0,022
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	0,018
Verhältnis	K	1 : 2
N : P	H	1 : 1,38

Tab. 12:

Fettgehalt in der Lunge (je 1 g) von Kontrollratte (K) und Heparinratte (H) nach 180 Minuten. Fettemulsion parave-
nös gespritzt.

Abb. 12



Der Gehalt des markierten Fettes in der Milz:

Die Bestimmung des Gehaltes an markiertem Fett in der Milz erfolgte einmal nach 180 Minuten, Tabelle 13. Der Fettgehalt ist um eine Zehnerpotenz geringer gegenüber der Lunge nach 180 Minuten. Außerdem ist der Effekt des gespritzten Heparins nicht zu bemerken. Sowohl der Gehalt an radioaktiv markierten Gesamtfetten als auch an Neutralfetten und Phosphatiden ist bei dem Heparintier höher als bei dem Kontrolltier. Dieses Ergebnis steht damit im Gegensatz zu unseren bisherigen Beobachtungen. Daß der Gehalt an markierten

Phosphatiden bei dem Heparintier erhöht ist, ist nicht überraschend, da wir dieses Ergebnis auch in der Leber gefunden haben. Bei dem erhöhten Fettgehalt bei Gesamtfetten und Neutralfetten haben wir es vermutlich mit einer Hemmung des Abbaues durch Heparin zu tun.

Zeit 180 Minuten

Laufende Nr.		8
Gesamtfette G	K	0,226
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	0,535
Neutralfette N	K	0,096
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	0,14
Phosphatide P	K	0,068
$\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.} \cdot 1 \text{ g}}$	H	0,11
Verhältnis N : P	K	1 : 0,71
	H	1 : 0,78

Tab.13:

Fettgehalt in der Milz (je 1 g) von Kontrollratte (K) und Heparinratte (H) nach 180 Minuten.

Abb. 13



Abb. 13: Radioaktiv markierter Fettgehalt in der Milz nach 180 min. Versuchsdauer.

Der Gehalt an radioaktiv markiertem $C^{14}O_2$ in der Ausatemungsluft:

Ergänzend zu den Analysen des Gehaltes an markierten Gesamtfetten, Neutralfetten und Phosphatiden nach der Injektion einer radioaktiven Fettemulsion wurde der $C^{14}O_2$ -Gehalt der Ausatemungsluft zu verschiedenen Zeiten bestimmt. Die vermehrte Verbrennung des Fettes zeigt auch eine vermehrte Ausatmung an $C^{14}O_2$ (siehe auch Heckelmann) (19). Die Tabelle 14 und die dazugehörigen Kurven zeigen einen Vergleich zwischen den Kontrolltier- und Heparintierwerten beim Versuch über 180 Minuten. Das Heparintier zeigt schon nach 15 Minuten eine vermehrte Ausscheidung an $C^{14}O_2$ gegenüber dem Kontrolltier. Der anfänglich hohe Wert sinkt jedoch bis zu 30 Minuten wieder ab und kommt in den Bereich des Kontrolltierwertes. Der erhöhte anfängliche $C^{14}O_2$ -Wert scheint eine Initialwirkung des Heparins zu sein, die den Stoffwechsel direkt nach der Injektion stark beschleunigt hat. Nach 60 Minuten ist der $C^{14}O_2$ -Wert des Heparintieres wesentlich erhöht gegenüber dem Kontrolltier. Das Maximum der Ausscheidung ist beim Heparintier bereits nach 60 Minuten erreicht und fällt bis 180 Minuten stetig ab. Dagegen steigt bei dem Kontrolltier die $C^{14}O_2$ -Ausscheidung langsamer an, um zwischen 90 und 150 Minuten ihr Maximum zu erreichen. Bei 180 Minuten ist der Kontrollwert höher als der Heparinwert, ein Zeichen dafür, daß der Abbau der markierten Fette beim Kontrolltier noch nicht beendet ist. Die Kurve, in der die Gesamt- $C^{14}O_2$ -Ausscheidung in der angegebenen Zeit aufgetragen ist, zeigt den intensiven und vermehrten Abbau der markierten Fette des Heparintieres gegenüber dem Kontrolltier.

Bei einem zweiten Atmungsversuch, der nur bis 90 Minuten ging, zeigt sich beim Heparintier in den ersten 15 Minuten eine verminderte $C^{14}O_2$ -Ausscheidung gegenüber dem Kontrolltier. Es handelt sich möglicherweise um eine anfängliche Hemmung durch das gespritzte Heparin. Nach 30 Minuten läßt sich jedoch die Heparinwirkung deutlich erkennen, wobei die $C^{14}O_2$ -Ausscheidung bis zu 60 Minuten des einen Heparintieres sofort intensiv ansteigt, die des zweiten Heparintieres etwas verzögert gegenüber der Ausscheidung des Kontrolltieres. Dies steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Analyse des markierten Fettgehaltes in der Leber.

Zeit in Min.		15'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Einzel $C^{14}O_2$ -	K	0,37	1,0	1,0	10,7	6,4	13,3	11,0
Menge $\frac{Imp. \cdot 10^3}{min.}$	H	3,8	1,6	30,4	9,1	8,1	7,1	6,5
Gesamt $C^{14}O_2$ -	K	0,37	1,37	2,37	13,07	19,47	32,77	43,77
Menge $\frac{Imp. \cdot 10^3}{min.}$	H	3,8	5,4	35,8	44,9	53,0	60,1	66,6
Einzel $C^{14}O_2$ -	K	4,0	8,5	14,7	30,2			
Menge $\frac{Imp. \cdot 10^3}{min.}$	H	a) 1,4 b) 1,4	8,2 17,5	48,5 22,9	49,5 46,8			
Gesamt $C^{14}O_2$ -	K	4,0	12,5	27,2	57,4			
Menge $\frac{Imp. \cdot 10^3}{min.}$	H	a) 1,4 b) 1,4	9,6 18,7	58,1 41,6	107,6 88,4			

Tab. 14: Einzel- und Gesamt- $C^{14}O_2$ der Ausatemungsluft von Kontroll- und Heparintier bis 180 bzw 90 Minuten.

Abb. 14/15, 16/17

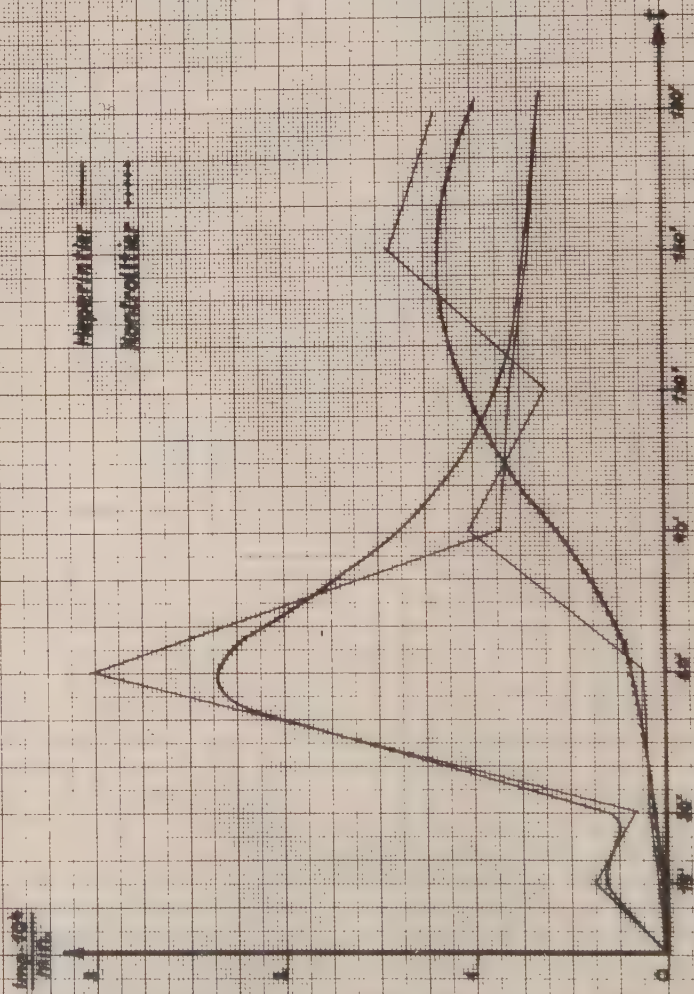


Abb. 14: Einzel $C^{14}O_2$ -Gehalt der Ausatemungsluft von O bis 180 Minuten
(Mittelwertskurve).

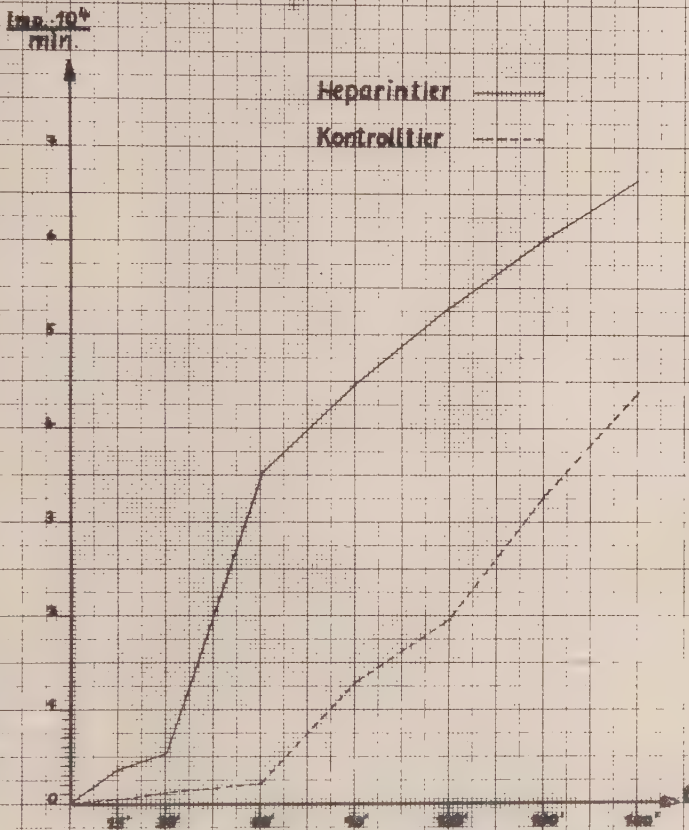


Abb. 15: Gesamt CO_2 -Gehalt der Ausatemungs-
luft von 0 bis 120 Minuten.

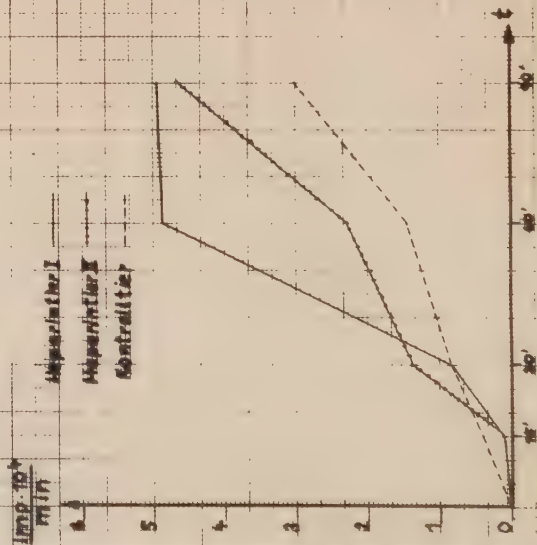


Abb. 16: Einzel $C^{14}Q$ -Gehalt der Ausatemungsluft von 0 bis 90 Minuten.

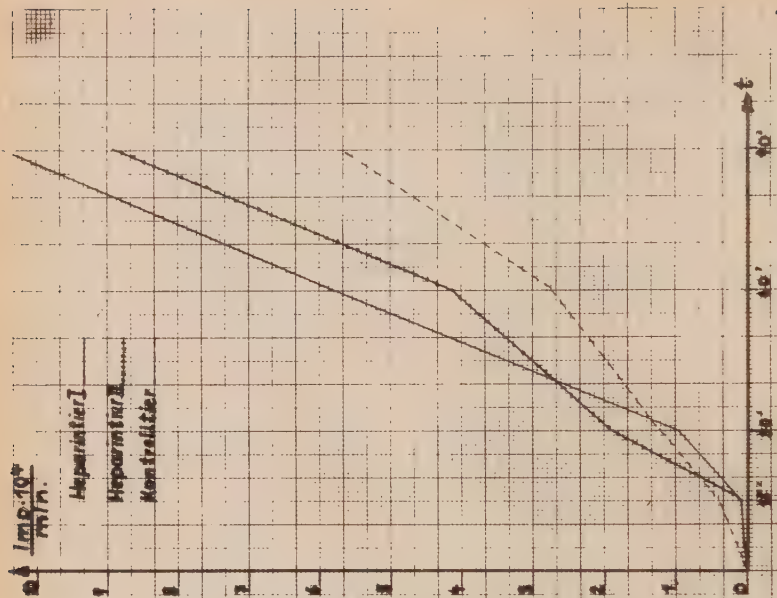


Abb. 17: Gesamt $C^{14}Q$ -Gehalt der Ausatemungsluft von 0 bis 90 Minuten.

Tab. Nr.	Zeit	Aktiv.	Spez. Aktiv.	
		Trockens.	Aktiv.	Trockens.
		H	K	H
	30	6113	386,1	18,26
1	30	3246	1329	931
		2551		561,9
	30	10965	1514	861
2	60	4190	1375	1309
		3039		1299
3	90	/	/	/
4	120	3671	1273	1731
	180	/	/	/
5	180	898	870,2	314,4
	180	/	/	/
6	180	96,45	60,43	53,42

Tabe

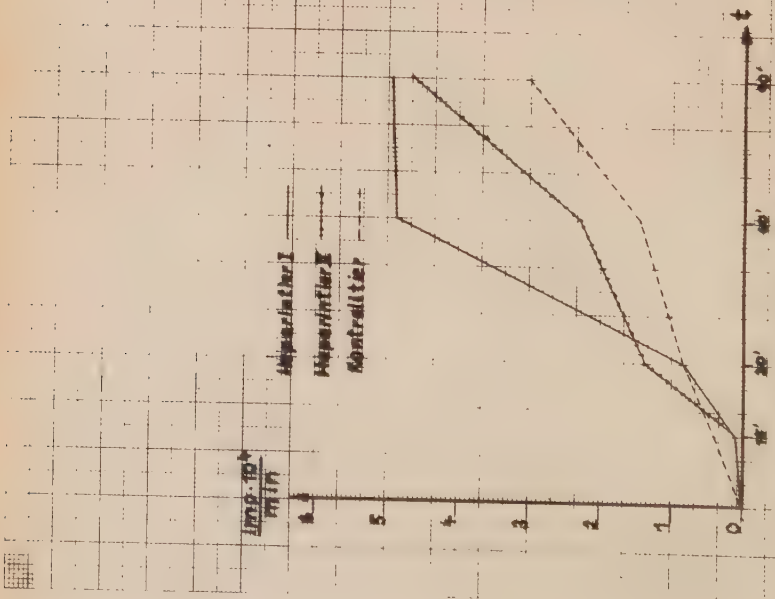


Abb. 16: Einzel $C^{14}Q$ -Gehalt der Ausatemungsluft von 0 bis 90 Minuten.

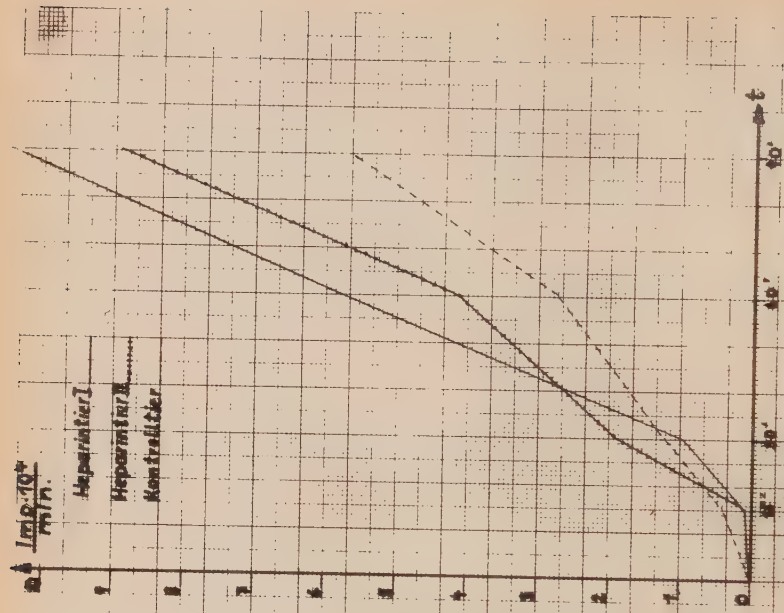


Abb. 17: Gesamt $C^{14}Q$ -Gehalt der Ausatemungsluft von 0 bis 90 Minuten.

Tab. Nr.	Zeit	Aktivität der Emuls. $\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.}}$	Gesamtfette G $\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.}}$		Neutralfette N $\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.}}$		Phosphatide P $\frac{\text{Imp.} \cdot 10^5}{\text{min.}}$	
			K	H	K	H	K	H
	30'	/	15,15	13,84	13,65	11,55	1,70	4,20
1	30'	55,63	9,64	a) 6,80	8,30	5,10	2,02	1,89
				b) 8,01		3,94		1,32
	30'	62,2	20,91	18,13	19,85	12,70	3,32	2,40
2	60'	/	21,77	a) 16,16	16,88	8,02	2,63	2,26
				b) 13,46		10,57		3,00
3	90'	26,68	11,29	a) 11,70	10,9	7,57	3,1	2,62
				b) 11,81		9,6		3,2
4	120'	24,25	6,86	6,86	4,05	3,65	2,71	2,80
	180'	/	3,19	2,86	1,67	1,27	1,28	1,25
5	180'	53,4	3,41	2,75	2,10	1,76	0,41	1,02
	180'	30,67	2,30	3,55	0,865	1,88	1,60	1,66
6	180' para- venös	48,96	0,266	0,249	0,172	0,145	0,118	0,107

Tabelle A: Gesamtergebnisse der Leber

Ausbeute in % (N + P = G)		Verhältnis N : P		Spez. Aktivit. N Akt/mg Trockens.		Spez. Aktivit. P Akt/mg Trockens.	
K	H	K	H	K	H	K	H
1 %	114 %	1:0,126	1:0,37	4962	6113	386,1	18,26
5 %	$\frac{102}{65} \%$	1:0,244	$\frac{1:0,37}{1:0,334}$	6101	$\frac{3246}{2551}$	1329	$\frac{931}{561,9}$
10 %	82,5%	1:0,168	1:0,189	5386	10965	1514	861
19 %	$\frac{63,6}{101} \%$	1:0,156	$\frac{1:0,282}{1:0,285}$	11350	$\frac{4190}{3039}$	1375	$\frac{1309}{1299}$
3 %	$\frac{89,5}{108} \%$	1:0,283	$\frac{1:0,346}{1:0,322}$	/	/	/	/
8 %	94 %	1:0,67	1:0,77	3770	3671	1273	1731
2 %	88 %	1:0,769	1:0,987	/	/	/	/
3,7%	101 %	1:0,19	1:0,56	1205	898	870,2	314,4
6 %	99,5%	1:1,85	1:0,88	/	/	/	/
9 %	102 %	1:0,68	1:0,74	76,68	96,45	60,43	53,42

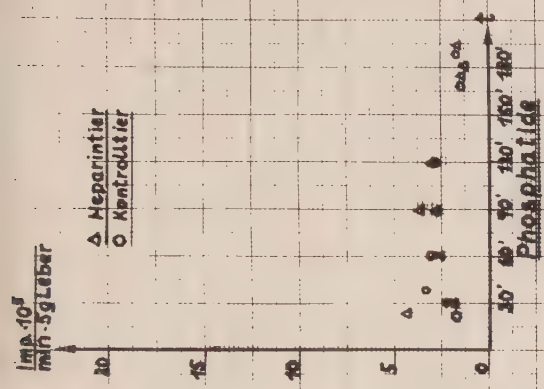
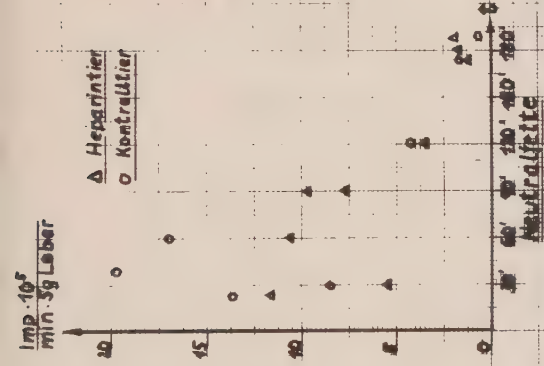
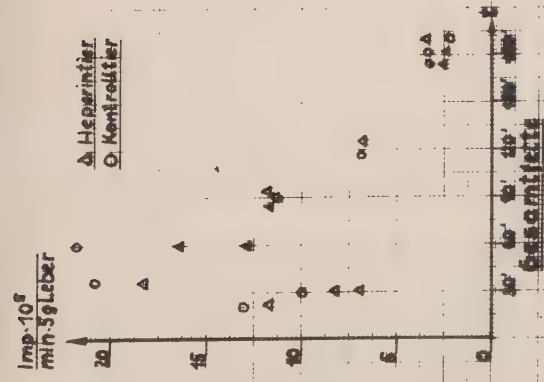


Abb. A: Übersicht des Gehaltes an radioakt. mat. Fett in der Leber (30 bis 180 Min.)

Tab. Nr.	Zeit	Aktivität der Emuls. Imp. · 10 ⁵ min.	Gesamtfette G Imp. · 10 ⁵ min.		Neutralfette N Imp. · 10 ⁵ min.		Phosphatide P Imp. · 10 ⁵ min.		Ausbeute in % (N + P = G)		Verhältnis N : P	
			K	H	K	H	K	H	K	H	K	H
7	30'	/	1,60	4,48	0,97	2,24	0,196	0,136	73 %	80,5 %	1:0,202	1:0,61
	30'	55,63	0,791	a) 0,737 b) 0,619	0,72	0,63 0,50	0,19	0,104 0,132	115 % 102 %	99,8 %	1:0,263	1:0,165 1:0,264
8	60'	/	5,78	a) 3,52 b) 4,24	3,15	2,66 3,03	1,99	0,349 0,499	88,9 % 83,3 %	85,4 %	1:0,127	1:0,133 1:0,165
9	90'	26,68	4,99	a) 2,15 b) 3,37	4,76	1,52 2,59	0,91	0,415 0,805	114 % 100 %	90 %	1:0,192	1:0,272 1:0,312
10	120'	24,25	1,15	1,01	0,548	0,482	0,287	0,375	73 %	85 %	1:0,52	1:0,78
	180'	30,67	1,45	0,92	0,53	0,49	0,188	0,237	49 %	79 %	1:0,35	1:0,48
12	180'	48,96	0,043	0,037	0,011	0,013	0,022	0,018	76 %	86 %	1:2	1:1,38
	para-venos											

Tabelle B: Gesamtergebnisse der Lunge

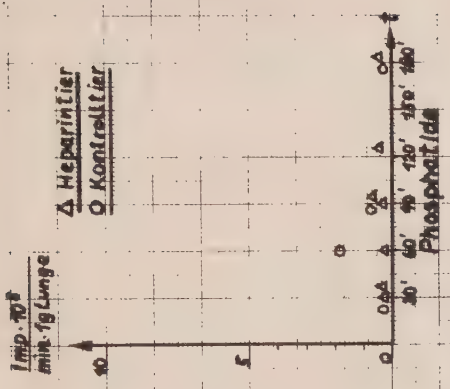
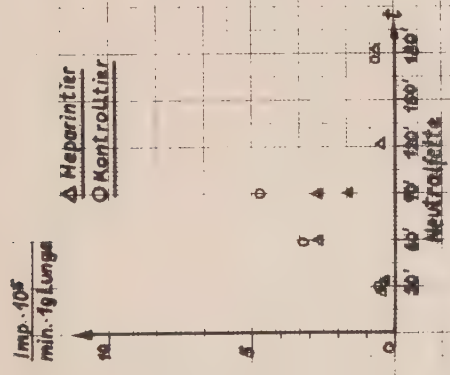
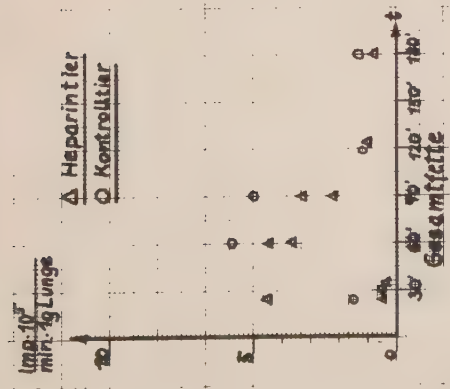


Abb. B: Übersicht des Gehaltes an radio-

aktiv mark. Fett in der Lunge

(30 bis 180 Min.)

Besprechung der Ergebnisse.

Über die Verwendung parenteral zugeführter Fett-emulsionen für klinische Zwecke liegen schon eine Reihe von Unterlagen vor. Die Aufgabe dieser Arbeit sollte es sein, die Wirkung von Heparin auf die Verwertung einer parenteral zugeführten, chemisch definierten, radioaktiv markierten Fettemulsion zu untersuchen. Die Versuche sind in Anlehnung an die Untersuchungen von Grossman und Mitarbeitern (15) durchgeführt und in manchen Punkten erweitert und vervollständigt worden. Sie unterscheiden sich durch die Verwendung einer besser definierten radioaktiv markierten Fettemulsion. Dadurch lassen sich viele der unterschiedlichen Ergebnisse zu Grossman erklären.

Unsere Fettemulsion bestand aus Tripalmitat und Triolein, d.h. sie enthielt nur Palmitinsäure und Ölsäure neben Tween 20 und Glukose. Die Fettemulsion von Grossman dagegen ist aus Sojabohnenöl hergestellt, das neben Palmitinsäure und Stearinsäure einen hohen Prozentsatz an ungesättigten Fettsäuren, wie Ölsäure, Linol-, Linolensäure und außerdem Phosphatide und pflanzliche Sterine enthält.

Die Versuchsergebnisse lassen sich nur vergleichen bei Beobachtungen eines Versuchspaares, während bei dem Vergleich verschiedener Versuche der Heparintiere gegenüber den Kontrolltieren sich die Versuche manchmal überdecken. Dies beruht auf der unterschiedlichen Teilchengröße der Emulsion, die für jede Versuchsgruppe gesondert angesetzt wurde.

Unsere Versuchsergebnisse zeigen, daß sich nach Zufuhr der radioaktiv markierten Fettemulsion nach 30 und 60 Minuten in der Leber der Kontrolltiere mehr

radioaktiv markiertes Gesamtfett und auch Neutralfett nachweisen läßt als in der Leber des Heparintieres. Erst nach längerer Zeitdauer werden die Werte beider Tiergruppen annähernd gleich groß (Tabelle A). Dieses kann dahingehend gedeutet werden, daß die Klärungsreaktion durch das exogene Heparin des Versuchstieres wesentlich beschleunigt wird, daß aber nach längerer Zeit (90 Min.) auch im Kontrolltier das stets vorhandene, endogene Heparin wirkt, allerdings verzögert und dadurch ein auffälliger Unterschied zwischen Kontroll- und Heparintier im Gehalt an radioaktiv markiertem Fett in der Leber gefunden wird. Nach 30 und 60 Minuten ist noch kein Gleichgewicht eingetreten.

Für die Verwertung von Nahrungsfett ist die Ablagerung und Verbrennung der Triglyceride ein geschwindigkeitsbestimmter Vorgang, weil Verdauung und Resorption von oral zugeführtem Fett rascher verlaufen. Dies läßt sich aus der im Plasma auftretenden Trübung (Lipämie) nach fettreicher Mahlzeit erkennen. Auch in einem solchen Fall führt eine Heparin-Injektion zur schnellen Klärung des Plasmas, auf Grund der Klärfaktorbildung. Er bewirkt ein rascheres Absinken des Neutralfettspiegels. Auf der Grundlage dieser Kenntnis kann auch der verminderte Gehalt an radioaktiv markiertem Fett in der Leber nach Heparininjektion gedeutet werden. Es ist Ausdruck eines intensiven Stoffwechsels im Sinne einer beschleunigten Abwanderung des Fettes in das Gewebe und die Depots.

Bei der Lunge fällt auf, daß der Gehalt an radioaktiv markierten Fetten bei Kontroll- und Heparintier nur ein Fünftel des Leberfettgehaltes beträgt. Ein merklicher Anstieg der markierten Fettsäuren in der Lunge ist erst zwischen 60 und 90 Minuten

zu verzeichnen. Der Gehalt an markierten Gesamtfetten, Neutralfetten und Phosphatiden der Heparintiere liegt anfänglich etwas niedriger gegenüber den Kontrolltieren, (Tabelle B). Auffällig ist, daß auch bei den Kontrollratten keine Fettembolie in der Lunge auftrat. Diese Tatsache erklären wir mit der geringen Teilchengröße unserer Emulsion und der endogenen Heparinausschüttung, die zu einer stetigen Resorption des Fettes aus der Blutbahn in die Zellen führte. Dieses Ergebnis stimmt auch mit der beobachteten schnellen Blutgerinnung überein, die sich auf Grund der vermehrten, endogenen Heparinausschüttung erklärt.

In der Milz wird - allerdings nach 180 Minuten - ein höherer Gehalt an radioaktiv markiertem Fett beim Heparintier gegenüber dem Kontrolltier gefunden. Das gleiche Ergebnis zeigt sich bei Neutralfett und Phosphatid. Eine Erklärung hierfür ist uns nicht möglich.

Parallel zu den Organuntersuchungen verlaufen auch die Atmungsversuche. In den ersten 30 Minuten nach Versuchsbeginn wird beim Heparintier eine höhere Radioaktivität in der ausgeatmeten $C^{14} O_2$ -Luft gefunden als beim Kontrolltier. Das läßt sich auch zu späteren Zeitpunkten bei 60, 90 und 120 Minuten nachweisen. Diese Ergebnisse besagen, daß die Injektion von Heparin eine vermehrte Verbrennung der zugeführten Neutralfettemulsion bewirkt. Auffallend ist in manchen Versuchen die vermehrte Radioaktivität der Phosphatide, vor allem in der Leber der Heparintiere gegenüber den nichtheparinisierten Tieren. Frische Rattenleber enthält nach Thannhauser (19) 147 mg %

Phosphor, das entspricht 36,75 mg/g Phosphatid. Bei Überprüfung unserer Werte wurde diese Zahl erreicht. Ein herausgegriffener Wert der spez. Aktivität des Phosphatids eines Leberorgans von 1375 Imp/mg ergab einen Phosphatidgehalt von 38 mg/g Rattenleber. (Gesamtimpulse des Phosphatids : 263 000 dividiert durch die spez. Aktivität von 5 ml Phosphatid ergibt 38 mg/g Rattenleber). Die vermehrte Aktivität der Leberphosphatide des Heparintieres kann als vermehrte Synthese von Phosphatiden unter Einbau radioaktiv markierter Fettsäuren verstanden werden. Bei der überschlagsmäßigen Berechnung der Gesamtaktivität aller untersuchten Organe der Tiere, - die allerdings nur mit großem Vorbehalt angegeben werden kann - ergibt die Summe einen Wert (einschließlich $C^{14} O_2$), der die Höhe der injizierten, radioaktiven Fettemulsion nicht erreicht. Diese Differenz ist beim Heparintier größer als beim Kontrolltier. Wir nehmen an, daß diese Differenz einmal in nicht erfaßten und nicht analysierten Verbindungen zu finden ist (denn das C^{14} wird auch in Kohlenhydrate und Eiweiß eingebaut), und zum anderen die markierten Fettsäuren in den Depots abgelagert sind. Die größere Differenz von wieder gewonnener Radioaktivität zur Ausgangsaktivität bei den Heparintieren bedeutet also entweder vermehrter Umbau im Stoffwechsel in nichtlipide Verbindungen oder eine beschleunigte und vermehrte Abwanderung in die Depots.

	H	K
Gesamte Leber $\frac{\text{IMP} \cdot 10^5}{\text{Min.}}$	17,55	16,94
Gesamte Lunge $\frac{\text{IMP} \cdot 10^5}{\text{Min.}}$	3,85	7,84
Gesamt C^{14}O_2 $\frac{\text{IMP} \cdot 10^5}{\text{Min.}}$	0,88	0,57
Gesamtimpulse $\frac{10^5}{\text{Min.}}$	22,28	25,35
Emulsionsaktivität $\frac{\text{IMP} \cdot 10^5}{\text{Min.}}$ pro Tier	26,68	26,68
Differenz $\frac{\text{IMP} \cdot 10^5}{\text{Min.}}$	4,40 =====	1,33 =====

Tabelle 15

Differenz zwischen der injizierten und wiedergewonnenen Radioaktivität von Heparin- und Kontrolltier.

Die Wirkung des injizierten Heparins auf die parental zugeführte, radioaktive Fettemulsion läßt sich in drei Richtungen erkennen: einmal findet eine vermehrte und beschleunigte Verbrennung des injizierten Fettes statt; weiterhin scheint eine vermehrte Ablagerung in die Depots vor sich zu gehen, und drittens kann eine vermehrte Überführung der markierten Fettsäuren in die Phosphatide der Leber beobachtet werden.

Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Herstellen der radioaktiven Fettemulsion aus markiertem und nicht markiertem Tripalmitat, Olein, Tween 20 und Glukose.
2. Spritzen der Rattengruppen mit Heparin (Heparintiere) und radioaktiver Fettemulsion (Heparin- und Kontrolltiere).
3. Auffangen der markierten Ausatemungsluft in verschiedenen Zeitabständen.
4. Herausnahme von Leber, Lunge und Milz nach verschiedenen Zeiten, Aufbereitung der Organe und Analysierung des Gehaltes an markierten Fetten (Gesamtfette, Neutralfette und Phosphatide).
5. In der Leber der mit Heparin gespritzten Tiere zeigt sich ein geringer Gehalt an markierten Gesamt- und Neutralfetten gegenüber den Kontrolltierwerten; der Gehalt an markierten Phosphatiden der Heparintiere ist jedoch gering vermehrt gegenüber den Kontrolltierwerten.
6. In der Lunge der mit Heparin gespritzten Tiere zeigt sich ein geringerer Gehalt an markierten Gesamtfetten, Neutralfetten und Phosphatiden. Allerdings tritt die Heparinwirkung in der Lunge etwas später ein als in der Leber.
7. In der Milz des mit Heparin injizierten Tieres zeigt sich ein erhöhter Gehalt an markierten Gesamtfetten, Neutralfetten und Phosphatiden.

8. Den geringeren Gehalt an markierten Fetten in Leber und Lunge der Heparintiere führen wir auf die Wirkung des injicierten Heparins zurück, das zu einer gesteigerten Verbrennung und zu einem beschleunigten Abtransport der markierten Fette in die Depots führt.
9. Der teilweise vermehrte Gehalt an markierten Phosphatiden in der Leber der Heparintiere ist durch die Überführung der freigesetzten, markierten Fettsäuren in die Phosphatide der Leber zu erklären.
10. Die gesteigerte Verbrennung der markierten Fette läßt sich aus der vermehrten Ausscheidung der markierten Ausatemungsluft erkennen.

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung von Herrn Professor Dr. W.Seitz unternommen, dem ich für seine Unterstützung aufrichtig danke.

Mein besonderer Dank gilt ferner Frau Dr.Dr. V. von Brand, die mir in liebenswürdiger Weise jede Hilfe zukommen ließ.

Mein Dank ist außerdem an Herrn Dr. N.Zöllner gerichtet, der mir besonders bei der Durchsicht der Arbeit vielerlei wertvolle Hinweise gab.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Hahn, P.F. Science 98, 19, 1943.
2. Anderson, N.G. and Fawcett, B. Proc.Soc.Exper. Biol. a. Med. 74, 768 - 771, 1950.
3. Anfinsen Ch. B., Boyle, E., Brown, R.K. Science 115, 583, 1952.
4. Zöllner, N., Rothmund, E., Seitz, W., Klin. Wochenschr. 32, 1096, 1954.
5. Zöllner, N., Rothmund, E., Frings, H.D., Ztschr. für physiol. Chemie 307, 112, 1957.
6. Fredrickson, D.S., Gordon, R.S., Physiol. Reviews, Vol. 38, 585, 1958.
7. Schettler, G., Schöll, H., Dtsch. Med.Wochschr. 82, 1405, 1957.
8. Anfinsen, Ch. B., Fed.Proc. 15, 894, 1956.
9. Inderbitzin, Th., Schweiz. Med. Wochschr. 28, 675, 1955.
10. Korn, E.D., Journ. Biol. Chem. 1, 215, 1955.
11. Zöllner, N. Frings, H.D., Ztschr. für exper. Med. 127, 578, 1956.
12. Iselin, B., Schuler, W., Helv. Physiol. Acta. 15, 14, 1957.
13. Seitz, W., Zöllner, N., Medizinische 955, 1955.
14. Hottinger, Hauser, Berger: Med. Probl. PÄdiatrie Zöllner, N., 3, 378, 1957.
15. Grossman, L.J., Becker, G., Hill, Th. W., Journ. of. Lab. Chem. Med. St.Louis. Vol. 45, 5, 786, 1955.

16. Drescher, H., Dissertation, persönliche Mitteilung, Münch. Univ. Polikl. Prof. Dr.W.Seitz.
17. Entenman, C., Lerner, S.R., Chaikoff I. L., Dauben W.G., Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 70, 364, 1949.
18. Calvin, M., Isotopic Carbon; John Willy A. Sons, Inc. New York 1949.
19. Heckelmann, A., Dissertation, Med. Poliklinik Prof. Dr. W.Seitz 1959.
20. Thannhauser, S.J., Benotti, J., Welcott, A., Reinstein, H., Journ. Biol. Chem. Bd. 129, 717, 1939.
21. Schettler, G., Eggstein, M., Dtsch. Med.Wschr. 83, 702, 1958.

Lebenslauf

Am 12. September 1932 wurde ich in Berlin geboren als Sohn des Dipl.-Ing. Walter Koch und seiner Ehefrau Tilde geb. Windhoff. Mein Vater ist Präsident des Bundesbahn-Zentralamtes in Minden (Westf).

Meine Grundschulausbildung erhielt ich in München von 1939 bis 1944; 1946 kam ich nach Bielefeld auf das humanistische Gymnasium und machte 1954 in Minden (Westf) das Abitur.

Das Medizinstudium nahm ich 1954 in Münster auf. Zwei Semester später wechselte ich nach München über, wo ich im Oktober 1956 das Physikum bestand. Dem medizinischen Staatsexamen unterzog ich mich in der Zeit vom 14.9. bis 12.12.1959.

